

Aus der Abteilung für experimentelle Chirurgie
und pathologische Biochemie
(Vorstand: Prof. Dr. med. W. Lorenz)
an der Chirurgischen Klinik
(Direktor: Prof. Dr. med. H. Hamelmann)
der Universität Marburg/Lahn

HISTAMINFREISETZUNG BEIM HUND DURCH
TRYPSIN, UNGESÄTTIGTE FETTSÄUREN (CREMOPHOR EL)
UND MODIFIZIERTE GELATINE (HAEMACCEL^R)

Eine Untersuchung mit Hilfe der
Histaminbestimmung im Vollblut

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg
vorgelegt von —

GERHARD MANN
—

aus Köppern

Marburg 1976
—

Aus der Abteilung für experimentelle Chirurgie
und pathologische Biochemie
(Vorstand: Prof. Dr. med. W. Lorenz)
an der Chirurgischen Klinik
(Direktor: Prof. Dr. med. H. Hamelmann)
der Universität Marburg/Lahn

HISTAMINFREISETZUNG BEIM HUND DURCH
TRYPSIN, UNGESÄTTIGTE FETTSÄUREN (CREMOPHOR EL)
UND MODIFIZIERTE GELATINE (HAEMACCEL^R)

Eine Untersuchung mit Hilfe der
Histaminbestimmung im Vollblut

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg
vorgelegt von

GERHARD MANN

aus Köppern

Marburg 1976



Angenommen vom Fachbereich
Humanmedizin der Universität
Marburg am .23.1.1976.....
gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches

Dekan : Prof.Dr.med.Oepen
Referent: Prof.Dr.med.W.Lorenz
Correferent: Prof.Dr.med.H.Hamelmann

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG
 - 1.1. Probleme bei der Bestimmung von Histaminfreisetzung
 - 1.1.1. Spezifität der Bestimmungsmethoden für Histamin
 - 1.1.2. Physiologische oder pathophysiologische Signifikanz der Veränderung der Histaminkonzentration in Körperflüssigkeiten und Geweben
 - 1.1.3. Übertragbarkeit der Ergebnisse über Histaminfreisetzung durch ein Medikament von einer Tierspezies auf die andere oder auf den Menschen
 - 1.2. Klinische Bedeutung von Histaminfreisetzung
2. ZIEL DER ARBEIT
3. MATERIAL UND METHODIK
 - 3.1. Material
 - 3.1.1. Versuchstiere und Gewebe
 - 3.1.2. Reagenzien
 - 3.2. Versuchsanordnungen
 - 3.2.1. Gelatineversuch
 - 3.2.2. Cremophorversuch
 - 3.2.3. Trypsinversuch
 - 3.3. Methoden
 - 3.3.1. Bestimmungsmethoden für Histamin aus Geweben und Körperflüssigkeiten
 - 3.3.1.1. Bestimmung von Histamin nach Ionenaustauschchromatographie an Dowex 50
 - 3.3.1.2. Butanolextraktionsmethode
 - 3.3.1.3. Kombinierte Methode (analytische Probe)
 - 3.3.1.4. Herstellung eines Präparates von Histamin aus 1 - 2 l Hundeblut (präparative Probe)
 - 3.3.2. Fluoreszenzspektroskopische Untersuchung des Histamins
 - 3.3.3. Dünnschichtchromatographie
 - 3.3.4. Enzymatischer Abbau des Histamins durch Diaminoxidase und Histaminmethyltransferase
 - 3.3.5. Blutdruckmessung
 - 3.3.6. Magensaftuntersuchung
 - 3.3.7. Statistik

4. ERGEBNISSE

4.1. Histaminbestimmung im Vollblut des Hundes

4.1.1. Vergleich von drei Isolierungsverfahren

4.1.2. Fluoreszenzspektren von Histamin, Hundevollblutextrakten nach verschiedenen Reinigungsverfahren und von den Reagenzien des Versuches

4.1.3. Dünnschichtchromatographie auf Zellulose von Histamin und Hundevollblutextrakten in fünf verschiedenen Laufmitteln

4.1.4. Inkubation von authentischem Histamin und Hundevollblutextrakten mit angereicherter Histaminmethyltransferase aus Schweineantrum und Diaminoxydase aus Schweineniere

4.2. Normalwerte der Histaminkonzentration im Hundevollblut

4.3. Histamingehalt verschiedener Gewebe von Hund, Kaninchen und Natalratte

4.4. Histaminfreisetzung beim Hund durch Trypsin, Cremophor EL und Haemaccel

4.4.1. Trypsin

4.4.2. Cremophor EL

4.4.2.1. Wirkung von Cremophor EL auf den arteriellen Blutdruck

4.4.2.2. Stimulierung der Magensaftsekretion durch Cremophor EL

4.4.2.3. Histamingehalt im Vollblut von vier Gefäßarealen nach Injektion von Cremophor EL

4.4.2.4. Arterieller Blutdruck und Vollbluthistaminspiegel nach Gabe von Lensodel NP 40

4.4.3. Haemaccel

4.4.3.1. Histaminspiegel im Vollblut von fünf Gefäßarealen nach Gabe von Haemaccel

4.4.3.2. Gewebshistamingehalt vor und nach Infusion von Haemaccel

5. DISKUSSION

6. ZUSAMMENFASSUNG

7. LITERATUR

1. EINLEITUNG

1.1. Probleme bei der Bestimmung von Histaminfreisetzung

Die Frage, ob Histamin eine physiologische oder pathophysiologische Rolle bei Mensch und Tier spielt, ist seit mehr als 50 Jahren unermüdlich erforscht worden, überwiegend durch die Bestimmung von Histaminfreisetzung entweder aus bestimmten Geweben oder in bestimmte Körperflüssigkeiten hinein.

Unter Benutzung dieser Techniken traten drei Hauptprobleme auf, die die Beantwortung dieser Frage sehr erschwerten:

- a) Die Schwierigkeit, spezifisch Histamin in Körperflüssigkeiten oder in Geweben mit geringer Histaminkonzentration zu messen.
- b) Die Schwierigkeit, zu entscheiden, welche der Veränderungen der Histaminkonzentration physiologisch signifikant sind, die im Plasma, die im Vollblut oder die im Gewebe.
- c) Die Schwierigkeit, die Ergebnisse der Histaminfreisetzung von einer Tierart auf eine andere oder gar auf den Menschen zu übertragen, da es viele Artverschiedenheiten in Bezug auf Mastzell- oder Nichtmastzell-Histaminspeicher gibt (Lorenz et al., 1972d).

1.1.1. Spezifität der Bestimmungsmethoden für Histamin

Wenn man die "Histaminkonzentration" von verschiedenen Körperflüssigkeiten bei Mensch, Hund und Schwein vergleicht, die nach Reinigung durch verschiedene Isolationsmethoden und nach fluorometrischer Bestimmung gefunden wurden, so wurden manchmal sehr sich widersprechende Ergebnisse erhalten (Abb. 1). Wurde die Methode Shore et al., (1959) verwendet, die in Abb. 1 "Butanolextraktion" genannt wurde, so betrug die "Histaminkonzentration" 4 ng/ml im menschlichen Plasma. Nach Chromatographie an Dowex 50 WX - 8 wurde diese "Histaminkonzentration" signifikant auf 1,8 ng/ml reduziert, aber nach Ionenaustauschchromatographie und

Spezies	Körperflüssigkeit	n	Histaminkonzentration (ng/ml)		
			Butanol- extraktion	Chromato- graphie an Dowex 50	Kombinierte Methode
			I	II	III
Mensch	Plasma	7	$4,0 \pm 1,1$	$1,8 \pm 0,4$	$0,9 \pm 0,3$
	Vollblut	5	57 ± 36	53 ± 33	55 ± 38
	Magensaft	15	454 ± 161	98 ± 54	14 ± 6
Hund	Plasma	5	$5,4 \pm 1,2$	$3,6 \pm 1,2$	$1,0 \pm 0,4$
	Vollblut	5	47 ± 13	25 ± 5	24 ± 7
	Gl. subm.	25	$15,2 \pm 5,0$	$14,0 \pm 5,6$	$9,6 \pm 4,3$
	Gl. parotis	25	$13,1 \pm 5,2$	$16,1 \pm 4,6$	$8,9 \pm 4,8$
Schwein	Plasma	5	39 ± 13	39 ± 16	41 ± 22
	Vollblut	16	2570 ± 1440	2980 ± 1520	2130 ± 1040

Abb.1 Vergleich der Histaminkonzentrationen verschiedener Körperflüssigkeiten von Mensch, Hund und Schwein; fluorometrisch gemessen nach Reinigung durch drei verschiedene Isolationsmethoden.

anschließender Butanolextraktion wurde eine noch niedrigere Konzentration gemessen. Alle diese Werte wurden auf Ausbeuteverluste korrigiert. Während im menschlichen Vollblut der gleiche Histamingehalt bei allen drei Isolationsmethoden gefunden wurde, zeigte auch der Magensaft die niedrigsten Werte nach dem kombinierten Isolierungsverfahren.

In verschiedenen Körperflüssigkeiten von Hunden (Abb. 1) wurde die niedrigste Histaminkonzentration regelmäßig nach Anwendung der kombinierten Methode gefunden. Dagegen zeigten sich identische Werte bei den drei Methoden im Plasma des Schweines. Deshalb mußte die passende Isolierungsmethode für Histamin für jede Körperflüssigkeit einzeln erprobt werden.

Die Ergebnisse berücksichtigend wird sich jeder fragen, welche der drei Methoden kann Histamin im einzelnen Fall spezifisch bestimmen. Da die in Abb. 1 gezeigten Werte alle bezüglich des Histaminverlustes korrigiert wurden (Ausbeutebestimmung), schien es wahrscheinlich, daß der signifikant niedrigste Wert der wahren Histaminkonzentration in der jeweiligen Körperflüssigkeit entsprach. Es mußte aber eingeräumt werden, daß auch dieser niedrigste Wert noch das Resultat von mehr als einer Substanz sein könnte, die mit o-Phthaldialdehyd unter Bildung einer fluoreszierenden Verbindung reagierte.

Deshalb wurde versucht, Histamin in den Extrakten, die nach der Reinigung die niedrigste Fluorezenzintensität zeigten, zu identifizieren (Lorenz et al., 1970). Als ein Beispiel hierfür werden wir später die Identifikation von Histamin im Hundevollblut in dieser Arbeit vorweisen.

1.1.2. Physiologische oder pathophysiologische Signifikanz der Veränderungen der Histaminkonzentration in Körperflüssigkeiten und Geweben

Das zweite Hauptproblem bei der Klärung der Frage nach der Rolle von Histamin im Organismus entsteht bei der Abschätzung, welche Veränderungen der Histaminkonzentration in

welchen Körperflüssigkeiten oder Geweben eine physiologische oder pathophysiologische Signifikanz aufweisen.

Als man die oben beschriebenen Methoden für die Histaminbestimmung in verschiedenen Körperflüssigkeiten benutzte, fand man beim Menschen einen Anstieg der Plasmahistaminkonzentration nach Verabreichung der Anaesthetika Propanidid, Thiopental, Methohexital und Althesin (Lorenz et al. 1972, Lorenz et al. 1974), sowie nach Verabreichung der Plasmasubstitute Gelatine und Dextran (Lorenz et al. 1973 a). Ein Anstieg des Histaminausstoßes in den Magensaft konnte nach Gabe von Histalog, Penta-gastrin und Insulin beobachtet werden (Lorenz et al. 1970a). Erhöhte Plasmahistaminspiegel konnten auch am ersten Tag nach schwierigen und langdauernden intraabdominellen Operationen wie Totalgastrektomie, Totalpancreatektomie oder Darmresektion wegen Colon- oder Rectumcarcinom gefunden werden (Lorenz et al. 1974). Doch ist diese Histaminausschüttung pathophysiologisch oder physiologisch bedeutsam?

Als ein Beispiel für die Lösung dieses Problems sollen hier die Ergebnisse mit dem Ultrakurzmarkotikum Propanidid (Epontol^R) mitgeteilt werden (Abb. 2).

Fünf gesunde Testpersonen erhielten 7mg/kg Propanidid. Die Plasmahistaminkonzentration stieg von 0,8 auf 3,0 ng/ml. Eine gesteigerte Magensäuresekretion wurde gemessen, deren Intensität zur Histaminausschüttung im Plasma parallel verlief und eine halbdimensionale Größenordnung erreichte. Die Vollbluthistaminkonzentration blieb unverändert, während der Gehalt an basophilen Granulozyten, den Histaminspeichern im Vollblut, zurückging. Der periphere arterielle Blutdruck und der Puls veränderten sich, bevor die Histaminausschüttung ihr Maximum erreichte. Deshalb verursachte die Histaminfreisetzung durch Propanidid bei gesunden Testpersonen wahrscheinlich nur eine Magensaftsekretion, während sie auf die beiden Parameter des Kreislaufes keinen Einfluß zeigte.

Um dieses Problem zu klären, wurde gesunden Testpersonen Histamin infundiert. Abb. 3 zeigt, daß der Plasmahistaminspiegel auf 3 - 4 ng/ml durch eine Histamindosis erhöht wurde,

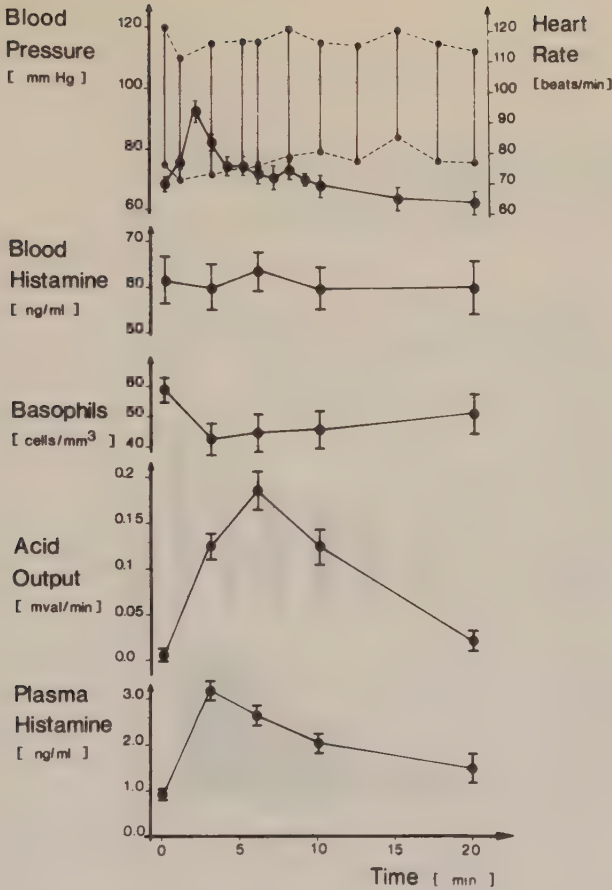


Abb. 2 Histaminkonzentration im Vollblut und Plasma, Basophilengehalt, Magensaftsekretion, Blutdruck und Herzfrequenz nach intravenöser Injektion von Propanidid. Mittelwerte $\pm$ S.E.M., 5 Probanden wurden mit Propanidid behandelt (7mg/kg i.v., Injektionszeit 20 sec). Bei jeder Person wurden alle Parameter gleichzeitig untersucht. — Herzfrequenz, ---- Blutdruck

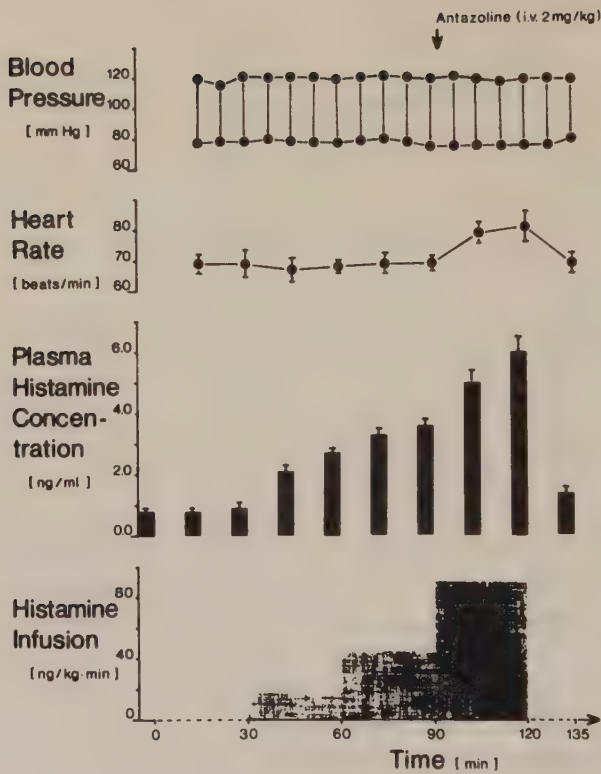


Abb. 3 Plasmahistaminkonzentration, Blutdruck und Herzfrequenz nach intravenöser Infusion von steigenden Dosen Histamin. Mittelwerte $\pm$ S.E.M., 3 Probanden

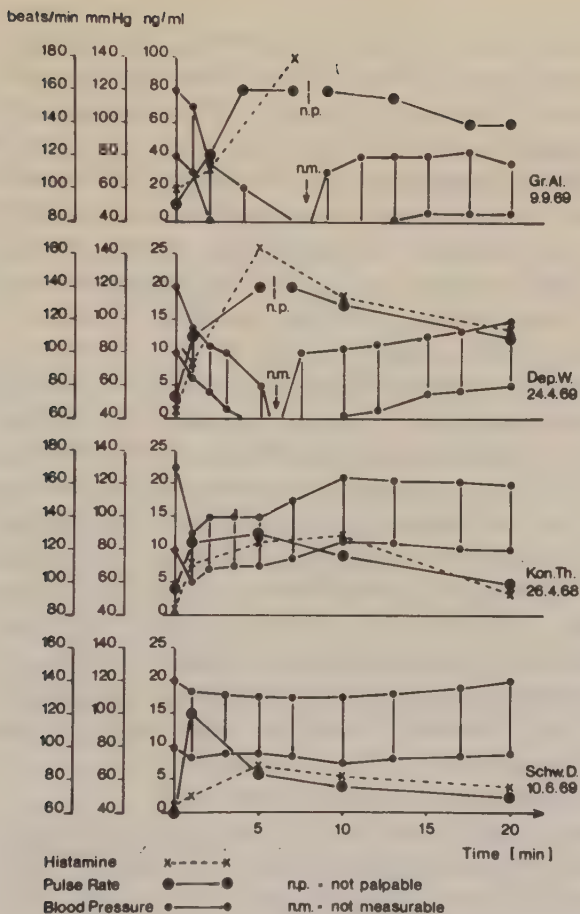


Abb. 4 Korrelation zwischen Plasmahistaminkonzentration, Pulsfrequenz und Blutdruck in vier Fällen von anaphylaktoiden und allergischen Reaktionen auf Propanidid. Werte von Einzelbestimmungen. Plasmahistamingehalt in ng/ml, Blutdruck in mmHg und Pulsfrequenz in Schläge/min.

die eine halbmaximale Magensaftsekretion induzierte (Lawrie et al. 1964). Diese Dosis stimulierte die Magensaftsekretion, ohne einen Einfluß auf den peripheren arteriellen Blutdruck oder auf die Herzfrequenz zu zeigen. Eine Verdoppelung der Dosis erzeugte nach Lawrie et al. (1964) eine maximale Magensaftsekretion. Diese verursachte in unseren Versuchen eine leichte Tachykardie, die durch eine Injektion eines H_1 -Rezeptor Antagonisten nicht verhindert wurde (Tachykardie durch H_2 -Rezeptor für Histamin vermittelt, Black et al. 1972)

Bei vier Anaesthesiezwischenfällen mit Propanidid wurden jedoch wesentlich höhere Plasmahistaminspiegel im Patientenblut als bei gesunden Testpersonen gemessen (Abb. 4). Der erste Patient hatte klinisch einen Herzstillstand und im Plasma eine Histaminkonzentration von 100 ng/ml, der zweite zeigte eine schwere Hypotension und 26 ng/ml Histamin, der dritte eine leichte Hypotension und 12 ng/ml und der vierte zeigte nur eine Tachykardie und 6ng/ml Histaminkonzentration. Letztere glich der klinischen Situation, die bei den Histamininfusionsexperimenten mit der höchsten Dosis des Amins erreicht wurde. Diese Fälle beweisen, daß Histaminfreisetzung ins Plasma von pathophysiologischer Signifikanz ist.

Histaminfreisetzung im Vollblut schien dagegen keine Korrelation zu den biologischen Parametern zu haben (Abb. 2). Wie aber Versuche mit Trypsin (Tauber et al. 1974) und Cremophor (Lorenz et al. 1972 b) bei Hunden zeigten, schien sich dies nicht in jedem Fall zu bewahrheiten (Abb. 5). Nach Injektion von Cremophor EL, einem Netzmittel, das normalerweise als Lösungsvermittler für hydrophobe Medikamente benutzt wird, wurde eine Histaminausschüttung ins Blut festgestellt.

Der Anstieg des Vollbluthistamins war aber um das 15 - 20 fache stärker als die Erhöhung des Plasmahistaminspiegels. Außerdem fiel der Plasmahistaminspiegel schneller ab als die Vollbluthistaminkonzentration: 30 min. nach der Injektion von Cremophor EL betrug die Plasmahistaminkonzentration nur

Zeit nach der Injektion (min)	Histaminkonzentrationen (ng/ml)	
	Plasma	Vollblut
0	0,4 $\pm$ 0,1	33 $\pm$ 15
MIH 2 - 4	26,6 $\pm$ 14,0	137 $\pm$ 67
5	24,1 $\pm$ 7,6	379 $\pm$ 289
10	17,3 $\pm$ 6,8	324 $\pm$ 218
15	14,5 $\pm$ 6,8	311 $\pm$ 228
30	9,5 $\pm$ 3,7	269 $\pm$ 182
60	6,0 $\pm$ 2,8	175 $\pm$ 158

Abb. 5 Histaminfreisetzung beim Hund nach Cremophor EL
Cremophor EL (20 % ORPE) 0,4 ml/kg wurde in die Vena femoralis injiziert; $\bar{x} \pm$ S.D.; n = 5. Abnahme des Blutes von der Vena cava inferior (infrahepatica). MIH = maximale initiale Hypotension.

noch ein Drittel der maximal erreichten, der Vollbluthistamin-gehalt aber ungefähr dreiviertel des maximalen Wertes. Setzt man aber die arterielle Hypotension nach Injektion von Cremophor EL mit dem Vollbluthistaminspiegel in Beziehung, so fällt die außerordentlich klare Parallelität zwischen beiden Parametern auf (Abb. 6).

Ähnliche Ergebnisse wurden bei Injektion von Trypsin erzielt (Abb. 7). Nach einem ersten Gipfel in der Vollbluthistaminkonzentration kam es nach einem häufigen Abfall zu einem zweiten Anstieg nach ungefähr 15 min., der nicht von einem Plasmahistaminanstieg begleitet wurde. Es scheint möglich, daß die starke Histaminfreisetzung aus den Geweben von den Erythrozyten abgefangen wurde, wie es Lindell und Viske (1961) schon zeigten. Aus diesen könnte es teilweise während der Passage durch die Kapillaren wieder freigegeben werden und die arterielle Hypotension weiterhin unterhalten. Beide letztgenannten Beispiele belegen, daß nicht nur die Plasmahistaminkonzentration, sondern auch die Vollbluthistaminkonzentration von pathophysiologischer Bedeutung sein kann.

1.1.3. Übertragbarkeit der Ergebnisse über Histaminfreisetzung durch ein Medikament von einer Tierspezies auf die andere oder auf den Menschen

Das dritte Hauptproblem ist die Abklärung der Frage, in wie weit die Ergebnisse über Histaminfreisetzung von einer Tierspezies auf eine andere zu übertragen sind. Mit der schwierigste Schritt ist sicher in diesem Zusammenhang der Übergang vom Tier zum Menschen.

Als Beispiel ist hier die Verbindung 48/80 bei Hund und Ratte anzuführen, weil praktisch alle Testobjekte auf die Applikation des Pharmakons in gleicher Weise reagierten. Aber bereits beim Schwein wies 48/80 nur mehr eine 75 %ige Inzidenz der Histaminfreisetzung auf, obwohl hohe Dosen des Stoffgemisches verabreicht wurden (Lorenz et al. 1971 a). Die Dosis wurde nämlich so gewählt, daß bei geringfügig höherer Dosis bereits mehrere Tiere starben (3 mg/kg, LD₁₀).

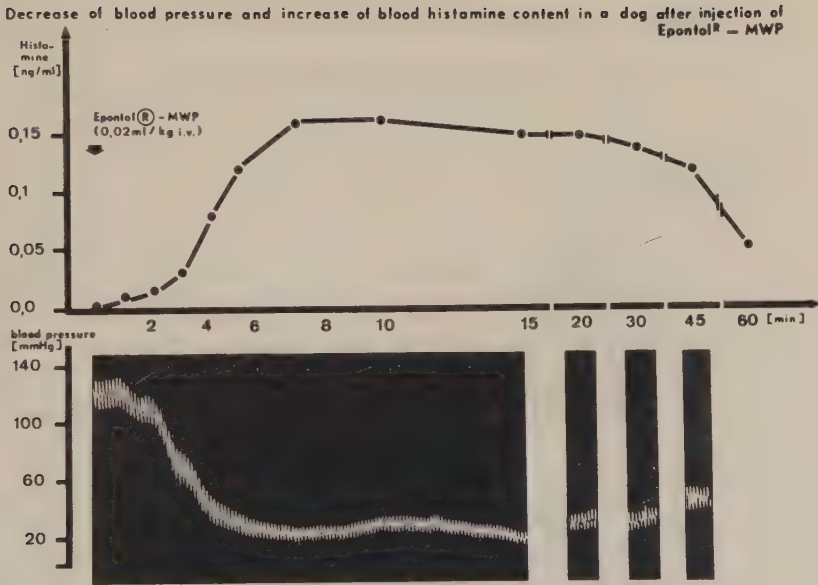


Abb. 6 Abfall des Blutdruckes und Anstieg des Histamin-
gehaltes im Blut beim Hund nach Injektion von
Cremophor EL (Epontol^R - MwP 0,02 ml/kg i.v.).

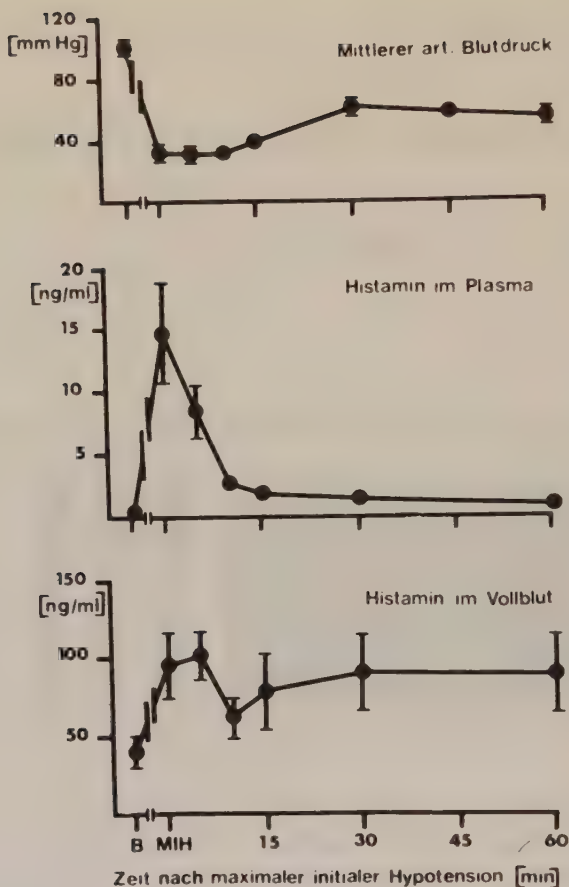


Abb. 7 Histaminfreisetzung in Plasma und Vollblut durch Trypsin. $\bar{x} \pm \text{S.E.M.}$ von 9 Versuchstieren.

Problematischer sind Untersuchungen am Menschen mit den klassischen Histaminliberatoren, wie 48/80, D-Tubocurarin oder Polymyxin B. Nicht nur die Schwere der Reaktion, sondern auch ihre Inzidenz hängt von der verabreichten Dosis des Liberators ab. Es ist aus ethischen Gründen ausgeschlossen, so hohe Dosen zu verwenden, daß sie eine Gefährdung der Testperson beinhalten könnten, nur um eine 100 %ige Inzidenz (100 %ige Inzidenz = von 100 Personen, die das Mittel erhalten, reagieren 100) zu erzielen. Aus denselben Gründen ist aber auch der Nachweis von Histaminfreisetzung mit Hilfe einer oder zwei Bestimmungen von Histamin im Vollblut, Plasma (Rockoff und Aker, 1972) oder im 24-Stunden-Urin (Anton et al., 1973) vor und nach Applikation des Pharmakons nur von äußerst zweifelhaftem Wert, weil zu den Problemen einer zuverlässigen Probennahme, Probenverarbeitung und Histaminbestimmung noch das einer variablen Inzidenz hinzukommt.

Makromolekulare Substanzen sind in ihrer histaminliberierenden Wirkung relativ speziesabhängig (Halpern, 1956; Giertz und Hahn, 1966; Goth, 1972). Es lohnt sich aber unserer Ansicht nach, diese Speziespezifität und die Spezifität hinsichtlich der Substanzgemische und der Chargen genauer zu prüfen, da hieraus Hinweise für die Wirkungsmechanismen dieser Präparate sowie Voraussagen einer möglichen Toxizität am Menschen erbracht werden könnten. Vor allen Dingen sind nicht nur verschiedene Ursachen der Histaminfreisetzung an ein und derselben Spezies denkbar, sondern können die Ursachen für verschiedene Spezies, z.B. Mensch und Hund, völlig verschieden sein. Dies erschwert mit einem neuen, zusätzlichen Argument die Übertragbarkeit von Ergebnissen am Tier auf die Verhältnisse beim Menschen. Es würde im Falle von Haemaccel^R zu einem möglicherweise katastrophalen Trugschluß führen, Gelatinechargen mit einer besonders guten Verträglichkeit am Hund nun klinisch zu verwenden, denn am Menschen würden diese Chargen unter Umständen

vermehrt anaphylaktoide Reaktionen hervorrufen. Im strengen Sinne sind deshalb im Falle von Haemaccel^R die Ergebnisse am Hund nicht relevant für die Klinik, obwohl sie zweifelsfrei erst der Anlaß waren, Probleme der Histaminfreisetzung durch Plasmasubstitute eingehend zu prüfen (Messmer et al., 1970).

Histaminfreisetzung durch Dextrane verschiedenster Molekulargröße und Molekulargewichtsverteilung wurden bisher bei der Ratte (Hahn und Wellmann, 1952), beim Kaninchen (Haining, 1955) und beim Menschen (Lorenz et al., 1973 a; Seidel et al., 1973, 1973 a; Lorenz et al., 1974 a) nachgewiesen. Anaphylaktoide Reaktionen nach Applikation von Dextranen, die keineswegs allein durch Histaminfreisetzung zu erklären sind, wurden bei der Ratte (Voorhees et al., 1951) und der Maus (Anderson und Hardenbergh, 1964) und für Dextransulfate auch beim Meerschweinchen (Walton und Ricketts, 1954) beschrieben. Keine Histaminfreisetzung und keine anaphylaktoide Reaktionen durch klinisch verwendetes Dextra-60 (Makrodex^R) konnten beim Hund (Messmer et al., 1970) sowie beim Schwein (Lorenz et al., 1971 a) gefunden werden. In teilweisem Gegensatz hierzu fanden Thompson und Walton (1963) gelegentlich hypotensive Reaktionen beim Hund, und Walton et al. (1959) sogar erhöhte Plasmahistaminspiegel bei dieser Art nach Applikation von Dextran in allen vier untersuchten Fällen, wobei allerdings die verwendete Methode zur Histaminbestimmung des Amins (Lowry et al., 1954) als völlig unzuverlässig angesehen werden muß.

Histaminfreisetzung durch Gelatinepräparate ließ sich bisher nur bei Hund und Mensch nachweisen (Messmer et al., 1969; Lorenz et al., 1970 a; Messmer et al., 1970; Lorenz et al., 1971 b; Lorenz et al., 1974; Seidel et al., 1973, 1973 a). Dabei war die Histaminfreisetzung beim Hund so massiv und im Falle der verwendeten Haemaccel^R-Charge von einer nahezu 100 %igen Inzidenz, so daß Gelatine im Sinne der Definition von Giertz und Hahn (1966) sowie Goth (1972) als neuer makromolekularer Histaminliberator beim Hund anzusehen war.

Keine Histaminliberierung oder auch keine anaphylaktoiden Reaktionen ließen sich durch Haemaccel^R bei Meerschweinchen, Ratte und Kaninchen auslösen (Keller, 1969; Schwick und Heide, 1969; Lorenz, 1974c).

Als weitere makromolekulare Histaminliberatoren wurden beim Hund Polyvinylpyrrolidon (Hahn und Wellmann, 1952), Tweene (Krantz et al., 1949) und Cremophor EL (Lorenz et al., 1971; 1972 b, c; 1973 a) nachgewiesen. Cremophor EL wurde dabei an Mensch, Schwein, Katze und Kaninchen untersucht (Lorenz et al., 1971 c), ergab aber nur bei Hund und Katze eine Histaminfreisetzung.

1.2 Klinische Bedeutung von Histaminfreisetzung

Histamin ist als eine pharmakologisch hochwirksame Substanz bekannt. Beim Menschen stimuliert es Magen- und Speichelsekretion, erniedrigt den arteriellen Blutdruck, erzeugt Tachykardie, erhöht die Permeabilität der Gefäße in der Mikrozirkulation und kontrahiert die glatte Muskulatur der Bronchien und des Gastrointestinaltraktes. Die Freisetzung von endogenem Histamin, hauptsächlich aus Mastzellen, erzeugt die gleichen biologischen Reaktionen und auch die gleichen klinischen Symptome, wie sie nach parenteraler Applikation von Histamin beobachtet wurden. Nur gewisse Veränderungen in der durch Histamin hervorgerufenen pathophysiologischen Situation können vorkommen. Diese müssen in die Überlegung mit eingeschlossen werden. So ist eine gleichzeitige Freisetzung von anderen vasoaktiven Substanzen aus aminhaltigen Zellen, speziell von Katecholaminen möglich. Auch muß das Gebiet der Histaminfreisetzung bedacht werden (Histamin aus dem Darm kann die Leberschranke nicht oder nur sehr unvollständig passieren).

Gesunde Menschen reagieren auf Injektion von Anaesthetika oder andere therapeutische Maßnahmen nur mit einer leichten Histaminfreisetzung (Lorenz et al., 1972, 1974 a). Jedoch in einzelnen Fällen und unter verschiedenen pathophysiologischen Bedingungen, wie Sepsis, Veränderungen in der

Blutgerinnung oder der Fibrinolyse, Aktivierung des Komplementsystems und bei Sensibilisierung, kann eine massive Histaminfreisetzung beim Patienten gemessen werden (Lorenz et al., 1972 a).

Die klinischen Symptome dieser Fälle zeigten sich in schwerer Anaphylaxie oder anaphylaktoiden Reaktionen. Solche Zwischenfälle wurden gelegentlich während oder nach Operationen, nach Gabe von Atropin, Propanidid, Thiopental, von Muskelrelaxantien und Analgetika (Lorenz et al., 1972 a), ebenso nach Infusion von Plasmasubstituten (Lorenz et al., 1974 a) beobachtet.

Schließlich behinderten oder zerstörten starke biologische Reaktionen, wie arterielle Hypotension und Herzstillstand, die hauptsächlich durch die Freisetzung von Histamin in den Kreislauf verursacht wurden, den Erfolg von Lebertransplantationen (Lorenz et al., 1973 b). Da eine Histaminfreisetzung aus dem Magen-Darm-Trakt oder aus der Leber nicht regelmäßig von Hautreaktionen oder Bronchospasmus begleitet sein muß, wird der akute arterielle Blutdruckabfall während Operationen meistens nicht mit einer Histaminfreisetzung in Verbindung gebracht.

Selbst der bei normalen Menschen beobachtete geringe Histaminanstieg im Plasma kann von klinischer Bedeutung sein. Ein Anstieg der Magensaftsekretion kann zu Erbrechen und Aspiration von Magensaft bei narkotisierten Patienten führen, was nach Propanidid bei einem Patienten beobachtet wurde (Doenicke et al. 73). Außerdem kann Histaminfreisetzung die Entstehung von postoperativen Stressulcera fördern (Seidel et al., 1973). Übereinstimmend mit Katz und Siegel (1968) konnte gezeigt werden, daß eine exogen zugeführte Histaminmenge, die eine halbmaximale Magensaftsekretion verursachte, verantwortlich für haemorrhagische Erosionen in der menschlichen Magenmucosa war. Durch diese Ergebnisse kann also nicht ausgeschlossen werden, daß auch endogenes Histamin bei der Entstehung von gastroduodenalen Ulcera beim Menschen Mitverursacher sein könnte.

Unter Berücksichtigung der Histaminfreisetzung bei chirurgischen Eingriffen scheint es auffällig, daß speziell medikamentöse Behandlungen für den Anstieg des Histaminspiegels verantwortlich waren, obgleich diese für die Gesundheit des Patienten notwendig waren. Auch die Einführung von mehr technischem Gerät in der Chirurgie, wie extrakorporaler Kreislauf, können eine Histaminfreisetzung als unerwünschten Nebeneffekt verursachen (Meyer-Burgdorf et al., 1973). Es steht außer Zweifel, daß diese Ergebnisse zur verstärkten Suche nach Möglichkeiten der Risikominderung für den Patienten besonders bei chirurgischen Eingriffen, Anlaß geben sollten.

2. Ziel der Arbeit

- 1) Die Spezifität der Histaminbestimmung im Vollblut sollte mit chemischen und biologischen Methoden überprüft werden.
- 2) Danach sollten Normalwerte für die Histaminkonzentration im Vollblut und Geweben beim Hund sowie zu Vergleich bei zwei weiteren Arten ermittelt werden.
- 3) Die Histaminfreisetzung durch drei in der Klinik interessante Medikamente bzw. körpereigene Substanzen, Cremophor EL, Haemaccel^R und Trypsin sollte durch die Bestimmung von Histamin im Vollblut verschiedener Gefäßareale gemessen und ihre Korrelation zu anderen Größen bestimmt werden.

3. Material und Methodik

3.1. Material

3.1.1. Versuchstiere und Gewebe

Bei den Kreislaufversuchen an Hunden wurden 100 Hunde beiderlei Geschlechts zwischen 5,0 und 48 kg Körpergewicht verwendet. Die Tiere waren zumeist Bastardschäferhunde, die aus dem Tierstall der chirurgischen Universitätsklinik Marburg, Marburg/Lahn, Rosenstraße, besorgt wurden.

Zur Bestimmung des Gehaltes an Histamin in Kaninchenorganen wurden 4 Kaninchen (Großsilber) beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht zwischen 4,0 und 9,8 kg untersucht. Die Tiere kamen ebenfalls aus dem Tierstall der chirurgischen Universitätsklinik Marburg. Zur Bestimmung des Histamingehaltes in Organen der Natalratte wurden ca. 40 Tiere, die zur Hälfte männlichen, zur anderen Hälfte weiblichen Geschlechts waren, von den Behringwerken in Marburg zur Verfügung gestellt.

3.1.2. Reagenzien

Histamindihydrochlorid puriss., - o-Phthaldialdehyd umkristallisiert in Petroläther, S.P. 40 - 70° C (Fluka, Buchs), Methanol, Heptan, anorganischen Säuren und Basen (Uvasol^R) (Merck, Darmstadt) - Butanol (für Chromatographie, Riedel de Haen, Seelze bei Hannover) - Dowex 50 WX-8, H⁺, mesh 200 - 400 (Serva, Heidelberg) - DC-Fertigplatten für Dünnschichtchromatographie (Merck)

Trypsin (Sigma) von Rinderpankreas, Type I, zweimal umkristallisiert, salzfrei - Cremophor EL (BASF, Ludwigshafen): Cremophor EL enthält einen hydrophoben und einen hydrophilen Anteil. Der hydrophobe Anteil wird ORPE genannt, was "oleum ricini polyoxyaethylat Eberfeld" bedeutet. Es enthält Ester der Ricinolsäure und Polyglykole in verschiedener Kettenlänge und Glycerol- und Polyglykol Äther.

Sie wurden von dem hydrophilen Teil getrennt und werden jetzt als Lösungsvermittler für das Anästhetikum Propanidid verwendet. Der hydrophile Teil besteht aus Polyglycoläthern (Abb. 8). Gelatine (Haemaccel^R, Behringwerke Marburg) wird normalerweise als Plasmasubstitut beim Menschen benutzt. Haemaccel wird aus Rinderknochen mit Hilfe einer partiellen Hitzedegradation der natürlichen Gelatine und einer Vernetzung der Peptide (MW 12000) durch Hexamethylendiisocyanat gewonnen. Durchschnittliches Molekulargewicht 35000, Bereich 5000 - 50000 (90 %), Konzentration 35 g/l, gelöst in Ringerlösung, pH 7,2 - 7,3. Nur die käuflich erhältliche Charge Nr. 3000 wurde in dieser Untersuchung benutzt. - Lensodel NP 40 (Shell) - Natrium Pentobarbital (Nembutal, Abbot).

Wenn nicht anders vermerkt, wurde nur doppelt destilliertes Wasser verwendet.

3.2. Versuchsanordnungen

3.2.1. Gelatineversuch

In Anaesthesie mit Pentobarbital (ca. 20 mg/kg i.v.) wurde nach der Methode von Messmer et al. (1970) Hunden über einen Katheder in der Femoralarterie während drei Minuten ca. 500 ml Blut entnommen (6 - 7 ml/kg und Minute). Nach 30 sec. wurde über einen Katheder in der Vena cava inferior dieses Volumen durch Plasmasubstitut ersetzt. Vor und nach der Blutentnahme, ebenso 1, 5, 10 und 20 Minuten nach der Druckinfusion, wurde Blut aus dem rechten Vorhof zur Histaminbestimmung entnommen.

3.2.2. Cremophorversuch

Vollbluthistamin wurde nach Gabe von Cremophor EL aus vier Kreislaufarealen bestimmt. Die Hunde wurden mit Pentobarbital betäubt und atmeten spontan. Die linke Femoralarterie wurde freigelegt und mit einem Katheder zur Blutdruckmessung verbunden. Nach Laparatomie wurden vier Katheder in verschie-

Cremophor EL (Zusammensetzung)

hydrophober Anteil (ORPE)

(84 %)

1. Oleum ricini polyoxy-
ethylate Elberfeld

2. Glyzerol, Polyglycol-
äther

hydrophiler Anteil

(16 %)

1. Polyglykole

2. Glyzerol, Poly-
glycoläther

Abb. 8 Das Netzmittel Cremophor

dene Gefäße eingelegt, deren Enden in der infrahepatischen Vena cava inferior, der abdominellen Aorta kurz unterhalb des Zwerchfelles, der Pfortader am Lebereingang und der Vena hepatica zu liegen kamen. Das Abdomen wurde geschlossen und 30 min. später wurde 0,1 ml/kg Cremophor EL in die Vena cava inferior injiziert. Blut wurde vor der Injektion, zum Zeitpunkt des maximalen Blutdruckabfalles und 5, 10, 15, 30 und 60 min. später aus allen vier Arealen gleichzeitig abgenommen. Der Histamingehalt wurde nach Chromatographie an Dowex 50 fluorometrisch bestimmt.

3.2.3. Trypsinversuch

Nach i.v. Anaesthesie mit Pentobarbital wurden den Hunden Katheder in die Femoralvene und die Femoralarterie gelegt. Nach Laparatomie wurden ebenfalls Katheder in die Pfortader und die Vena hepatica gelegt. Nach 30minütiger postoperativer Ruhezeit wurden aus allen vier Arealen Blutproben zur Histaminbestimmung entnommen. Nach Gabe von Trypsin wurden bei maximalem Blutdruckabfall, nach 5, 10 und 15 min., Blut entnommen.

3.3. Methoden

3.3.1. Bestimmungsmethoden für Histamin aus Geweben und Körperflüssigkeiten

Gewebestücke wurden mit neuen Teilen 0,4 N HClO_4 mit dem Ultraturrax homogenisiert, für 5 min. bei 1800 g zentrifugiert und mit 4,0 ml des Überstandes zur Histaminbestimmung verwendet. Je 5 ml Vollblut wurden bei narkotisierten Hunden über die Katheder mit einer Polyaethylenspritze abgezogen und sofort mit 5 ml 1 N HClO_4 versetzt. Nach Zentrifugieren bei 1800 g wurde wiederum 4,0 ml des Überstandes für die Histaminbestimmung verwendet.

3.3.1.1. Bestimmung von Histamin nach Ionenaustauschchromatographie an Dowex 50 (Lorenz et al., 1970)

4,0 ml des Perchlorsäureüberstandes der Gewebe bzw. des Vollblutes wurden mit 2 N NaOH und 0,1 M Natriumphosphatpuffer (pH 6,5) auf pH 6,5 an einer Glaselektrode eingestellt und auf eine kleine Säule von Dowex 50 W-X 8 (0,3 x 2 cm equilibriert mit 0,1 M Natriumphosphatpuffer (pH 6,5) aufgetragen. Die Säule wurde der Reihe nach mit 5,0 ml Natriumphosphatpuffer (pH 6,5), 1,0 ml bidestilliertem Wasser und 5,0 ml 1 N HCl gewaschen. Histamin wurde mit 3,0 ml 4 N HCl eluiert. Zur fluorometrischen Bestimmung des Amins wurde das Eluat mit einem gleichen Volumen bidestilliertem Wasser verdünnt. 1,0 ml dieser Lösung wurde mit 0,5 ml 5 N NaOH und 0,1 ml 1% o-Phthaldialdehyd-Lösung gemischt. Genau 2 min. später wurden 1 ml 1 M H_3PO_4 zugegeben und die Fluoreszenz bei $21 \pm 0,5^\circ \text{C}$ in einem Zeiss-Spektrofluorometer gemessen. Anregungen bei 360 nm. Fluoreszenz bei 450 nm. Ausbeute 95 bis 100 %.

3.3.1.2. Butanol-Extraktionsmethode (Shore et al., 1959)

Zum Vergleich verschiedener Isolierungsverfahren für Histamin wurde auch das von Shore et al., (1959) angegebene Verfahren durchgeführt. 4,0 ml des Perchlorsäureüberstandes von Gewebe und Vollblut wurden mit n-Butanol im Alkalischen extrahiert und nach Waschen mit 0,1 N salzgesättigter NaOH mit n-Heptan in die wässrige Phase (0,1 N HCl) zurückgeführt. Histamin wurde nach Kondensation mit o-Phthaldialdehyd nach Zugabe von 3 N HCl anstelle von 4 M H_3PO_4 fluorometrisch bestimmt. Ausbeute: 75 bis 85 %.

3.3.1.3. Kombinierte Methode (analytische Probe)

Histamin wurde aus 4,0 ml des Perchlorsäureüberstandes nach Einstellung auf pH 6,5 durch Kationenaustauschchromatographie (wie oben) isoliert. Das gesamte, unverdünnte

Eluat wurde auf pH 11,5 - 12,0 mit 5 N NaOH an der Glaselektrode eingestellt und in einem Erlenmeyerkolben mit Schliff und Schliffstopfen mit 1,5 g Natriumchlorid und 10 ml n-Butanol 20 min. mechanisch geschüttelt. Das weitere Vorgehen entsprach der Methode von Shore et al., (1959), wobei nach dem Zentrifugieren die organische Phase mit 0,1 N salzgesättigter NaOH gewaschen und Histamin darauf mit n-Heptan aus der organischen Phase in 0,1 N HCl zurückgeführt wurde. Die Kondensation von Histamin und o-Phthaldialdehyd erfolgt ebenfalls nach der Methode von Shore et al., (1959).
Ausbeute: 60 bis 70 %

3.3.1.4. Herstellung eines Präparates von Histamin aus 1 - 2 l Hundevollblut (präparative Probe)

Zur Identifizierung von Histamin im Vollblut unbehandelter Tiere wurden fünf Hunde sofort nach der Blutentnahme, die zum Vergleich der Histaminwerte bei den drei verschiedenen Bestimmungsmethoden benutzt wurde, entblutet. Über den in der Arteria femoralis liegenden Katheder wurden 0,9 - 3,6 l Blut aufgefangen, die mit den entsprechenden Mengen eisgekühlter 1 N HClO_4 gemischt wurden. Nach dem wie oben beschriebenen Zentrifugieren wurde der gesamte Überstand als präparative Probe benutzt.

3.3.2. Fluoreszenzspektroskopische Untersuchung des Histamins

Histamin kommt in Körperflüssigkeiten in so geringer Konzentration vor, daß für die Identifizierung und Prüfung der Spezifität der Methode hochempfindliche Tests angewendet werden mußten. Es wurde deshalb zunächst das Fluoreszenzspektrum der isolierten Substanz mit dem von authentischem Histamin verglichen.

Mit dem Zeiss-Spektrofluorometer wurde das Anregungs- und Fluoreszenzspektrum der isolierten Substanz von authentischem Histamin, sowie von einer Mischung aus beiden aufgenommen. Der Wellenlängenvorschub erfolgte manuell, die Ablesung erfolgte alle 5 nm.

3.3.3. Dünnschichtchromatographie

Authentisches Histamin, die isolierte Substanz aus Hundeblood und ein Gemisch aus beiden wurden in bekannten Konzentrationen auf eine Dünnschichtplatte mit MN-Zellulose (0,25 mm, Glasplatten 20 x 20 cm) aufgetragen und liefen in fünf verschiedenen Lösungsgemischen. Die fluoreszierenden Flecken wurden nach Besprühen der Platten mit 2 N NaOH, gefolgt von o-Phthaldialdehyd (0,1 % in Methanol), sichtbar. Innerhalb 3 - 4 min. erschien eine bläuliche Fluoreszenz, die nach Anregung bei 366 nm mit einer UV-Lampe (Desaga-Uvis) gesehen wurde. Die hohe Empfindlichkeit dieser Methode erlaubt die Sichtbarmachung von Histamin in Mengen um 20 ng. Die Rf-Werte der isolierten Substanz und von Histamin wurden mit denjenigen einer Mischung aus diesen beiden Substanzen auf derselben Platte verglichen.

3.3.4. Enzymatischer Abbau des Histamins durch Diaminoxidase und Histaminmethyltransferase

Es wurden die Inaktivierungsgeschwindigkeiten durch 165-fach angereicherte Erbsen-Diaminoxidase (Präparat Dr. Kusche) und 120-fach angereicherte Histamintransferase aus Schweineantrum (Präparat Dr. Barth) für Standardhistamin und die aus dem Plasma isolierte Substanz verglichen. Erbsenkeimlinge besitzen eine hohe Aktivität an Diaminoxidase. Dies nach der modifizierten Methode von Werle und Schirren (1965) sowie Kusche (1970) mittels Säurefällung, Ammoniumsulfatfraktionierung und Gelfiltration an Sephadex G 100 gereinigte Enzym wurde zum Abbau von Histamin benutzt. Die Konzentration der isolierten Substanz wurde fluorometrisch als "Histaminäquivalent" bestimmt. Standardhistamin wurde in gleicher Konzentration in 0,1 N HCl gelöst. Nachdem beide Lösungen mit gleichem Volumen 0,1 N NaOH neutralisiert waren, wurden Standardhistamin und die isolierte Substanz mit gereinigter Diaminoxidase inkubiert, in einem Schüttelinkubator (H350, Gallenkamp, London) bei 25° C und Luftatmosphäre.

Die Inkubationslösung enthielt 0,25 ml der Histamin- bzw. Histaminäquivalentlösung, 0,55 ml 0,2 M Phosphatpuffer, pH 7,4 und 0,2 ml Diaminoxydaselösung (0,1 I.U. gelöst in 0,2 M Phosphatpuffer, pH 7,4).

Die Reaktion wurde in verschiedenen Inkubationsproben nach 5, 10, 15, 20, 25 und 30 min. durch das Hinzufügen von 0,25 ml 2 N HClO_4 gestoppt. Nach fünfminütigem Zentrifugieren bei 1800 g wurden 1,0 ml des Überstandes mit einer Glaselektrode auf einen pH-Wert von 6,5 mit 0,1 M Phosphatpuffer, pH 6,5 eingestellt und Histamin durch Chromatographie an Dowex 50 isoliert und anschließend fluorometrisch bestimmt. Inkubationsproben, die durch Perchlorsäure inaktiviertes Enzym enthielten, wurden als Nullwert benutzt. Die isolierte Substanz und Standardhistamin wurden als identisch betrachtet, wenn sie die gleiche Inaktivierungsgeschwindigkeit aufwiesen. Für den Abbau durch Histaminmethyltransferase wurde 120-fach angereichertes Enzym aus Schweineantrum mukosa verwendet. Das Enzym wurde durch Ultrazentrifugation, Ammoniumsulfatfraktionierung, Chromatographie an DEAE-Zellulose und Gelfiltration an Sephadex G 100 gewonnen. 1,0 ml der gereinigten Enzymlösung wurde zur Messung der Inaktivierungsrate von Standardhistamin und Histaminäquivalent benutzt. Die Versuchsanordnung war die gleiche wie oben beschrieben.

3.3.5. Blutdruckmessung

Der Blutdruck während der Versuche wurde blutig gemessen. Dazu lag ein Katheter in der Arteria femoralis. Er war an einen Statham-Druckumwandler P 23 Db angeschlossen, der wiederum mit einem Hellige Kompensographen in Verbindung stand. So konnten die Blutdruckschwankungen während der Versuche kontinuierlich festgehalten werden.

3.3.6. Magensaftuntersuchung

Die Magensaftuntersuchungen (nur Bestimmung der Volumina und der pH-Werte) wurden am mit Pentobarbital narkotisierten Hund mit einer akuten Magenfistel durchgeführt. Der Blutdruck wurde hierbei blutig wie oben gemessen.

3.3.7. Statistik

Die statistische Signifikanz der Ergebnisse wurde mit dem Student's-t-Test für unpaare Daten und für gepaarte Daten berechnet (Snedecor und Cochran, 1967). Für diese Berechnung wurde ein Olivettitischcomputer (Programm 102) verwendet. Alle Histaminwerte in Gewebe und Vollblut wurden in μg Histamindihydrochlorid angegeben (Verhältnis Salz zu Base 5 : 3). Außerdem wurde bei deutlicher Abweichung der Werte von der Normalverteilung das Median-Perzentilsystem verwendet. Für gepaarte Daten wurde in diesem Fall zur Signifikanzbestimmung der Wilcoxon-Test angewandt.

4. Ergebnisse

4.1. Histaminbestimmung im Vollblut des Hundes

4.1.1. Vergleich von drei Isolierungsverfahren

Die Histaminwerte des Hundevollblutes wurden nach Durchführung der drei verschiedenen Reinigungsmethoden verglichen (Abb. 9), die in dem Abschnitt "Methoden" beschrieben wurden. Bei allen drei Methoden wurden die Ergebnisse durch einen internen Standard von authentischem Histamin, das zum Perchlorsäureextrakt zugegeben wurde, hinsichtlich der Histaminverluste während der Verfahren korrigiert. Die Butanolextraktion ergab die höchsten "Histaminwerte", was auf andere mit o-Phthaldialdehyd reagierende Substanzen in der Probe zurückzuführen war, die durch das Extrahieren nicht abgetrennt wurden. Sowohl die Chromatographie an Dowex 50 als auch die kombinierte Methode zeigten dagegen gleiche Ergebnisse. Deshalb wurde die Dowex-Methode zur Identifizierung und der Bestimmung des Histamins im Vollblut benutzt.

4.1.2. Fluoreszenzspektren von Histamin, Hundevollblut-extrakt nach verschiedenen Reinigungsverfahren und von Reagenzien des Versuches

In analytischen Proben zeigte sich, daß das Fluoreszenzspektrum der aus Hundevollblut durch Chromatographie an Dowex 50 isolierten Substanz gleich dem des authentischen Histamins war (Abb. 10). Dasselbe Ergebnis wurde bei der kombinierten Methode erhalten, während nach Butanolextraktion noch eine schmale Schulter in langwelligeren Bereich auftrat. Diese Schulter könnte durch

Tier Nr.	Reinigungsverfahren		
	Butanol- extraktion (I)	Dowex 50 (II)	Kombinierte Methode (III)
1	30	20	24
2	39	42	38
3	44	29	25
4	45	30	32
5	50	20	25
6	51	51	44
7	62	28	16
Median (untere und obere Quatile)	45 (39-51)	29 (20-42)	25 (24-38)

Abb. 9 Vergleich der Ergebnisse der drei Reinigungsmethoden für die Bestimmung des Histamins im Hundevollblut. Von jedem Tier wurde Blut zum Methodenvergleich benutzt. Für die Errechnung des mittleren, oberen und unteren Quartils siehe Snedecor und Cochran (1967) und Büttner et al.; Statistische Signifikanz (Wilcoxon-Test: I/II $P < 0.05$; I/III $P < 0.01$; II/III n.s.

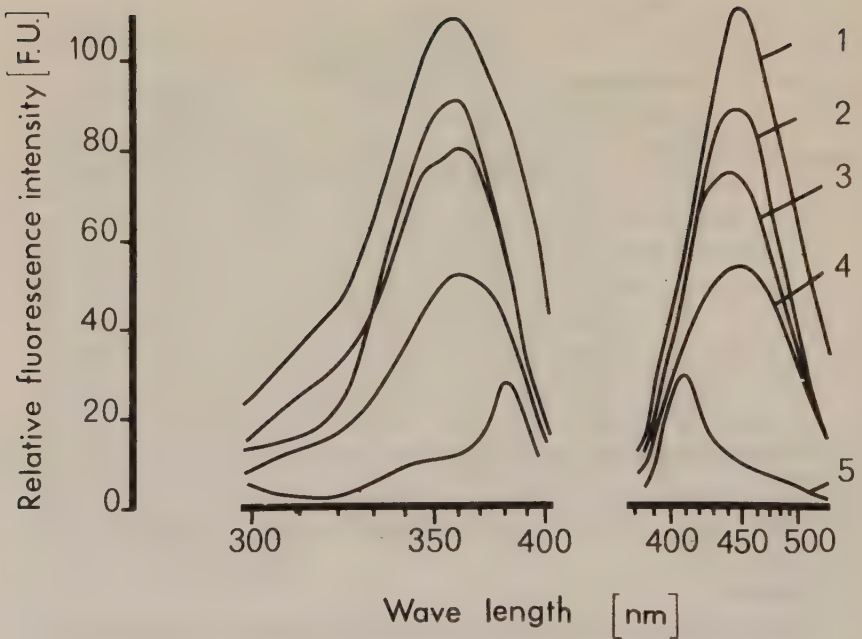


Abb. 1o Fluoreszenzanregungs- und Emmisionsspektrum des authentischen Histamins und der aus dem Hundevollblut durch die drei Reinigungsverfahren gewonnenen Substanzen.

- 1= Ah = authentisches Histamin
- 2= Co = kombinierte Methode
- 3= Bu = Butanolextraktion
- 4= Do = Dowex-Methode
- 5= Rb = Reagenzien-Leerwert

Substanzen hervorgerufen worden sein, die mit der fluorometrischen Bestimmung des Histamins im Hundevollblut interferieren. Die Reagenzien zeigten bei den Anregungs- und Fluoreszenzmaxima des Histamins ein Minimum an Luminiszenz, das Maximum bei 380/410 dürfte auf dem Raman-Effekt des Wassers beruhen (Lorenz et al., 1974 b).

4.1.3. Dünnschichtchromatographie auf Zellulose von Histamin und Hundevollblutextrakten in fünf verschiedenen Laufmitteln

Nach Dünnschichtchromatographie auf Zellulose und Besprühen der Platten mit o-Phthaldialdehyd wurden nur Flecke auf dem Chromatogramm gefunden, deren R_f -Werte dem von authentischem Histamin entsprachen. (Abb. 11). Damit ließ sich die aus Hundevollblut isolierte Substanz eindeutig als Histamin identifizieren.

4.1.4. Inkubation von authentischem Histamin und Hundevollblutextrakten mit angereicherter Histaminmethyltransferase aus Schweineantrum und Diaminoxidase aus Schweineniere

Die in diesem Abschnitt beschriebenen Ergebnisse wurden in Zusammenarbeit mit J. Kusche und H. Barth ermittelt. Die Inkubation der präparativen Proben mit dem jeweiligen Enzym erfolgte in den Arbeitsgruppen dieser Untersucher, während die Bestimmung des nach der Inkubation noch vorhandenen Histamins in unserer Arbeitsgruppe erfolgte. Wie Abb. 12 zeigt, wurden authentisches Histamin und die aus Vollblut isolierte Substanz mit derselben Geschwindigkeit metabolisiert. Da vor allem die Histaminmethyltransferase ein für Histamin hochspezifisches Enzym darstellt,

Lösungsmittel (v/v)	R _f - Wert		
	Authentisches Histamin	Isolierte Substanz	Kombinierte Methode
Äthanol/Ammoniak (25 %) (80:20)	0.76	0.75	0.74
Äthanol/Diäthyäther/ Ammoniak (25 %)/ Wasser (48:60:6:12)	0.62	0.62	0.60
Isopropanol/ Ammoniak (25 %) (80:20)	0.52	0.55	0.54
Phenol (100 g)/ 30 ml Wasser	0.45	0.46	0.44
n-Butanol, gesättigt in 1 N HCl	0.10	0.13	0.13

Abb. 11 Identifizierung der aus Hundevollblut isolierten Substanz als Histamin mit Hilfe des R_f-Wertes nach Dünnschichtchromatographie an Zellulose MN 300. Mittelwerte aus vier Bestimmungen.

Inkubations- zeit (min.)	Diaminoxydase		Histaminmethyl- transferase	
	isolierte Substanz (nmol)	authentisches Histamin (nmol)	isolierte Substanz (nmol)	authentisches Histamin (nmol)
0	1.70	1.91	13.4	11.9
5	1.15	1.36	--	--
10	--	--	3.7	2.9
15	0.87	0.97	--	--
20	0.71	0.71	2.7	1.9
25	0.65	0.65	--	--
30	0.60	0.60	2.1	1.2

Abb. 12 Vergleich der Reaktionsgeschwindigkeiten der Inaktivierung des authentischen Histamins und der aus Hundevollblut isolierten Substanz durch Diaminoxydase und Histaminmethyltransferase.

ist dieser Befund ein Beweis für die Identität der aus Blut isolierten Substanz mit Histamin.

Die Ergebnisse all dieser Identifizierungsverfahren bewiesen, daß mit der Ionenaustauschmethode an Dowex 50 spezifisch Histamin im Vollblut des Hundes gemessen wurde.

In dem Plasmasubstitut Haemaccel^R, das in dieser Arbeit als Histaminliberator bei Hunden verwendet wurde, konnte o-Phthaldialdehyd - reaktive Substanzen entdeckt werden (Lorenz et al., 1974 a). Deshalb wurden einige Identifizierungsverfahren mit Proben des Hundevollblutes, das zum Zeitpunkt des maximalen Blutdruckabfalles nach Haemaccel^R-Infusion entnommen wurde, wiederholt (Spektren, Kriterien nach Hakanson et al., 1972; und Inkubation mit Histaminmethyltransferase). In all diesen Tests erwies sich, daß nach Infusion von Haemaccel^R die Störfaktoren zu rasch im Blut verdünnt sowie eliminiert wurden, daß die Histaminbestimmung im Vollblut dadurch nicht gestört wurde.

4.2. Normalwerte der Histaminkonzentration im Hundevollblut

Die Histaminkonzentration im Hundevollblut der Vena cava inferior zeigte nahezu eine logarithmische Normalverteilung (Abb. 13). Der Median lag bei 47 ng/ml, oberes und unteres Quartil waren 34 und 75 ng/ml; die Extremwerte lagen bei 13 - 209 ng/ml.

Die Histaminwerte zeigten in den vier Kreislaufregionen keine signifikanten Unterschiede (Abb. 14). Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu denen von Anrep et al., (1953). Unter der Vielzahl der Versuchstiere waren jedoch einige, die eine höhere Histaminkonzentration in der Pfortader als in der Vena hepatica aufwiesen. Die Anzahl solcher Tiere stieg an, wenn die Blutentnahme direkt nach der Operation vorgenommen wurde. Dies könnte die Ergebnisse von Anrep et al., (1953) erklären unter der Voraussetzung, daß möglicherweise eine Histaminfreisetzung durch die Vorbehandlung der Tiere die unterschiedlichen Werte verursacht haben könnte.

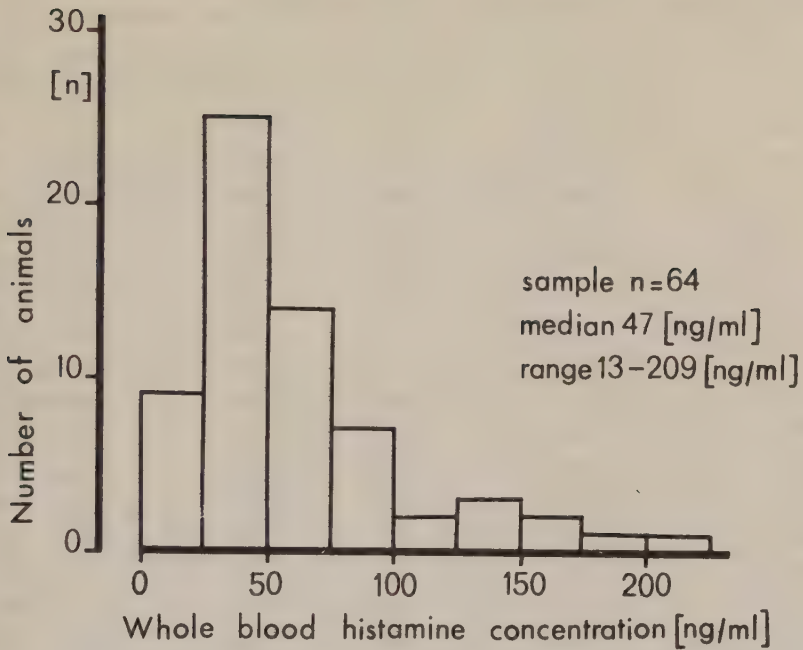


Abb. 13 Verteilungskurve der Histaminkonzentration im Vollblut unter Normalbedingungen.

Tier Nr.	Histaminkonzentration im Vollblut (ng/ml)			
	Bauch- aorta	V. cava inferior	Pfort- ader	Vena hepatica
1	150	113	93	123
2	143	150	143	115
3	105	109	125	135
4	75	75	75	82
5	68	59	66	62
6	60	60	60	70
7	59	69	45	66
8	57	45	51	54
9	39	45	45	48
10	36	56	35	44
11	32	20	24	19
12	30	26	23	20
13	29	32	31	50
14	24	20	22	19
15	23	29	24	26
16	21	27	23	27
17	18	20	18	15
18	15	14	15	13
19	15	17	20	29
20	15	15	14	15
21	12	10	32	19
22	11	11	33	23
Median (untere u. obere Quartile)	31 (18-68)	31 (20-69)	33 (23-66)	36 (20-70)

Abb. 14 Histaminkonzentrationen im Hundevollblut aus vier Kreislaufarealen unter Normalbedingungen.

Gewebe	Histaminkonzentration ($\mu\text{g/g}$)		
	Hund (<i>Canis lupus familiaris</i>) n = 7	Kaninchen (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) n = 5	Natalratte (<i>Mastomys natalensis</i>) n = 4*
GASTROINTESTINALTRAKT			
Zunge	12.4 $\pm$ 3.0	0.8 $\pm$ 0.5	23.0 $\pm$ 7.1
Gland. submand.	29.3 $\pm$ 10.2	0.8 $\pm$ 0.2	3.3 $\pm$ 0.8
Gland. parotis	7.2 $\pm$ 1.5	1.4 $\pm$ 0.5	4.0 $\pm$ 1.9
Oesophagus			
Obere Teil	14.0 $\pm$ 2.3	1.3 $\pm$ 0.2	> 1.7 $\pm$ 0.8
Untere Teil	18.2 $\pm$ 1.0	1.0 $\pm$ 0.2	
Magen			
Fundus	10.1 $\pm$ 1.5	10.0 $\pm$ 4.5	8.9 $\pm$ 5.4
Corpus	11.7 $\pm$ 4.0	12.3 $\pm$ 6.3	> 4.3 $\pm$ 0.4
Antrum	69.3 $\pm$ 24.7	4.4 $\pm$ 1.6	
Duodenum	11.5 $\pm$ 1.8	9.1 $\pm$ 3.3	3.8 $\pm$ 0.7
Jejunum	14.5 $\pm$ 2.6	6.3 $\pm$ 4.9	5.0 $\pm$ 1.0
Ileum	83.4 $\pm$ 16.8	3.9 $\pm$ 3.3	3.2 $\pm$ 1.4
Caecum	---	5.5 $\pm$ 4.8	1.9 $\pm$ 0.6
Colon	71.6 $\pm$ 21.3	7.6 $\pm$ 5.2	2.7 $\pm$ 0.9
Rektum	31.2 $\pm$ 8.8	7.6 $\pm$ 2.0	---
Leber	38.3 $\pm$ 16.0	2.3 $\pm$ 1.4	1.5 $\pm$ 0.4
ÜBRIGES GEWEBE			
Lunge	63.8 $\pm$ 45.4	16.9 $\pm$ 11.5	2.3 $\pm$ 0.7
Niere	1.1 $\pm$ 0.8	1.5 $\pm$ 0.7	2.1 $\pm$ 0.7
Milz	20.9 $\pm$ 10.5	47.9 $\pm$ 15.7	9.0 $\pm$ 0.9
Thymus	13.4 $\pm$ 3.9	2.4 $\pm$ 0.6	5.3 $\pm$ 0.2
Gland. thyreoidea	4.2 $\pm$ 1.6	1.3 $\pm$ 0.6	---
Herz			
Atrium	---	2.3 $\pm$ 1.8	> 1.3 $\pm$ 0.3
Ventrikel	---	0.9 $\pm$ 0.2	

Abb. 15 Histaminkonzentration in Geweben verschiedener Säugetiere

siehe nächste Seite

- zu Abb. 15 Mittelwert $\pm$ S.D. Der obere Teil des Oesophagus reichte vom Pharynx bis zur Bifurcatio Tracheae, der untere Teil von diesem Punkt bis zur Cardia. Beim Magen wurde bei allen Spezies nur die Schleimhaut untersucht, mit Ausnahme der Natalratte. Im Darm wurde der Histamingehalt der gesamten Darmwand bestimmt. Alle untersuchten Gewebe wurden jeweils von jedem Tier abgenommen.
- n = Anzahl der Tiere oder Tiergruppen
 (gilt nur, wenn Gewebe gemeinsam bestimmt wurde).
- * Bei Mastomys wurden die Gewebe von jeweils 8 Tieren gemeinsam bestimmt.

4.3. Histamingehalt verschiedener Gewebe von Hund, Kaninchen und Natalratte

In allen untersuchten Geweben konnte Histamin nachgewiesen werden, aber mit einem beachtlichen Unterschied von Gewebe zu Gewebe. Histaminkonzentrationen unter $1 \mu\text{g/g}$ wurden nur in einigen Organen, wie z.B. der Submandibulardrüse und dem Herzen des Kaninchens gemessen. Histaminkonzentrationen von mehr als $100 \mu\text{g/g}$ fanden wir unter anderem in der Lunge des Hundes. 90 % aller Organhistaminkonzentrationen befanden sich im Bereich von $1 - 100 \mu\text{g/g}$.

Vergleicht man die drei verschiedenen Säugetierarten, so wies der Hund relativ hohe Histaminkonzentrationen auf, während Kaninchen oder Natalratte (*Mastomys natalensis*) geringe Histamingehalte zeigten. Nur hohe oder nur niedrige Werte in allen Organen wurden aber bei keiner Spezies gefunden. So enthielten Magenschleimhaut und Darm von *Mastomys* und Kaninchen mittlere Werte an Histamin. Niedrige Histaminwerte konnten bei allen Arten in der Niere und im Herzmuskel festgestellt werden, während die Leber, die Submandibulardrüse und die Milz sehr speziesspezifisch hohe Gehalte an Histamin zeigten.

4.4. Histaminfreisetzung beim Hund durch Trypsin, Cremophor EL und Haemaccel

4.4.1. Trypsin

Nach Injektion von Trypsin kam es im Vollblut zu einem beträchtlichen Anstieg der Histaminkonzentration (Abb. 16). Als Ort der Histaminfreisetzung ist praktisch ausschließlich die Leber anzusehen. Der riesige Anstieg der Histaminkonzentration im Bereich der Vena hepatica übertrifft bei weitem den aller anderen Kreislaufareale. Die Bluthistaminspiegel in den vier Kreislaufarealen sind weiterhin folgendermaßen zu deuten: Das histaminreiche Blut aus der Leber gelangt unverdünnt in die Aorta. Die Pfortaderspiegel erklären sich durch Histaminaufnahme im Darm aus arteriellem Blut und die Histaminspiegel in der infrahepatischen Vena

Versuchsphase	Histamingehalt des Vollblutes (ng Histamindihydrochlorid/ml; $\bar{x} \pm$ S.D., n=9)			
	Aorta abdominalis	V.portae	V.hepaticae	V.cava inferior (infrahepatic)
3 min vor Injektion	72 $\pm$ 56	68 $\pm$ 48	71 $\pm$ 48	67 $\pm$ 49
Zeitpunkt maximaler initial Hypotension	504 $\pm$ 839	170 $\pm$ 136	1305 $\pm$ 1874	157 $\pm$ 110
5 min danach	214 $\pm$ 175	175 $\pm$ 147	245 $\pm$ 201*	170 $\pm$ 131**
10 min danach	103 $\pm$ 76	110 $\pm$ 59*	151 $\pm$ 109	102 $\pm$ 65
15 min danach	126 $\pm$ 92	167 $\pm$ 163	130 $\pm$ 98	130 $\pm$ 119
30 min danach	153 $\pm$ 139	180 $\pm$ 211	153 $\pm$ 98	149 $\pm$ 143
60 min danach	160 $\pm$ 169	171 $\pm$ 216	122 $\pm$ 107	148 $\pm$ 147

Abb. 16 Histaminfreisetzung im Vollblut durch Trypsin beim Hund

Trypsin "Sigma", 5 mg/kg in die V. femoralis

*p < 0,05, **p < 0,02, T-Test für gepaarte Daten,

Bezugswert ist der Ausgangswert 3 min vor Injektion.

cava durch Extraktion des Amins in die Peripherie (z.B. Muskel, Niere).

4.4.2. Cremophor EL

4.4.2.1. Wirkung von Cremophor EL auf den arteriellen Blutdruck

Cremophor EL in einer Dosis, die etwa der Hälfte der am Menschen benutzten entsprach, rief beim Hund eine starke Hypotension hervor (Abb. 17). Die Kontrollflüssigkeit (Kochsalz, Phosphatpuffer und Wasser) zeigte keinen signifikanten Effekt, während Cremophor EL den Blutdruck innerhalb von 3 min um ca. 120 mm Hg senkte. Der verzögerte Eintritt der Hypotension nach Injektion des Lösungsvermittlers sprach für das Vorliegen einer Histaminfreisetzung. Diese sollte in weiteren Experimenten noch erhärtet werden.

4.4.2.2. Stimulierung der Magensaftsekretion durch Cremophor EL

Nach Injektion von Cremophor kam es zunächst zur ausgeprägten arteriellen Hypotension, sowie auch zur Sekretion eines stark sauren Magensaftes (Abb. 18). Nach Injektion von 0,2 ml/kg Cremophor EL nahm das Volumen der Magensaftsekretion um durchschnittlich das 4fache zu, der pH-Wert des Saftes fiel von 4,6 auf 1,9 ab. Beide Veränderungen erwiesen sich im Test für gepaarte Daten als signifikant.

4.4.2.3. Histamingehalt im Vollblut von 4 Gefäßarealen nach Injektion von Cremophor EL

Die Ausgangskonzentration des Histamins im Vollblut war in den 4 verschiedenen Gefäßarealen gleich hoch. Nach Injektion von Cremophor EL war ein bemerkenswerter Anstieg des Histaminspiegels in allen 4 untersuchten Gefäßabschnitten zu beobachten. Trotzdem gibt es einige Unterschiede in den 4 Arealen in Bezug auf den Zeitpunkt und quantitative Aspekte

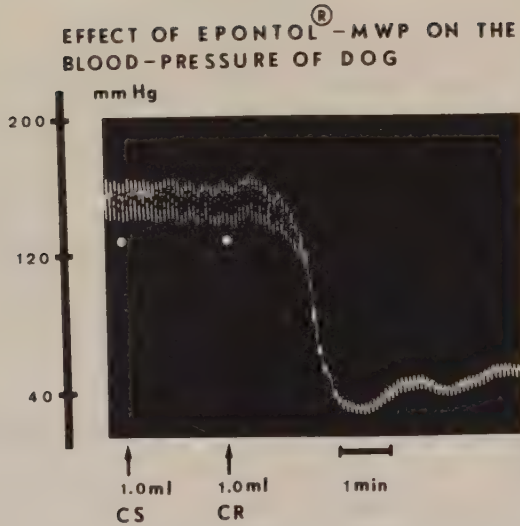


Abb. 17 Wirkung des Cremophor auf den arteriellen Blutdruck beim Hund
CR = Cremophor CS = Kontrollösung
Aufnahme mit Kymographen und Ludwigschem Quecksilbermanometer

Hund Nr.	Magensaftsekretion				Blutdruck- senkung (mm Hg)
	Basalsekretion		Gipfelsekretion nach Epontol-MWP		
	Volumen ml/30 min I	pH-Wert II	Volumen ml/30 min III	pH-Wert IV	
1	3,8	4,5	20,0	1,6	80
2	4,2	6,8	15,7	2,1	100
3	1,9	3,5	9,7	1,9	60
4	2,7	4,7	4,1	1,8	40
5	0,4	3,5	3,2	2,0	65
$\bar{x} \pm S.D.$	$2,6 \pm 1,5$	$4,7 \pm 1,3$	$10,5 \pm 7,3$	$1,9 \pm 0,2$	69 ± 22

Abb. 18 Magensaftsekretion und Hypotension beim Hund nach
Injektion von Cremophor (Epontol-MWP)
p I/II < 0,05; p II/IV < 0,01

der Histaminfreisetzung. Nur in der Pfortader konnte ein fast maximaler Anstieg des Vollbluthistamins zum Zeitpunkt der stärksten Hypotension beobachtet werden. In den anderen Kreislaufgebieten kam dieser Anstieg erst 5 bis 10 min später. Ferner wurden die höchsten Werte in der Vena inferior und in der Pfortader gemessen. Zweierlei konnte daraus geschlossen werden:

- I. Da die Histaminkonzentration in der Bauaorta niedriger war als in der Pfortader, wurde das Histamin sicherlich aus dem Gastrointestinaltrakt freigesetzt und nicht aus der Leber, was die Histaminspiegel in der Lebervene zeigten.
- II. Da die Histaminkonzentrationen in der Vena cava inferior höher als in der Aorta waren, wurde Histamin sehr wahrscheinlich ebenfalls in der Peripherie des Körpers freigesetzt.

Biologische Tests und die Bestimmung des Histamins im Vollblut wiesen damit Cremophor EL als einen Histaminliberator aus, wobei die Orte der Freisetzung der Gastrointestinaltrakt und die Körperperipherie darstellten.

4.4.2.4. Arterieller Blutdruck und Vollbluthistaminspiegel nach Gabe von Lensodel NP 40

Daß bestimmte Netzmittel, wie Tweene, spezifische Histaminliberatoren beim Hund sind, ist seit mehr als 20 Jahren bekannt (Krantz et al., 1948). Wie Cremophor EL sind auch Tweene Abkömmlinge von Fettsäuren. Ein Netzmittel auf anderer chemischer Basis, das Lensodel NP 40, das ein Kondensationsprodukt aus Octylphenol und Äthylenoxyd darstellt, erwies sich beim Hund als stark blutdrucksenkend, nicht aber als Histaminliberator (Abb. 20). In einer Dosis von 0,02 ml/kg senkte Lensodel NP 40 den Blutdruck kurzfristig um durchschnittlich 80 mm Hg. Bereits 3 - 4 min später wurde der Ausgangsdruck wieder erreicht. Im Vollblut der Tiere konnte weder in der Arteria und Vena femoralis, noch in der Vena porta und hepatica ein signifikanter Anstieg

Zeit nach M.I.H. (min.)	Histaminkonzentration (ng/ml, n=10 $\bar{x} \pm$ S.D.			
	V. cava inferior	abdominale Aorta	Pfortader	V. hepatica
O-Wert	32 $\pm$ 14	32 $\pm$ 14	35 $\pm$ 17	33 $\pm$ 16
M.I.H.	140 $\pm$ 66 ^x	100 $\pm$ 59 ^{xx}	240 $\pm$ 210 ^{xxxx}	83 $\pm$ 28 ^x
5	314 $\pm$ 240	204 $\pm$ 180	240 $\pm$ 150 ^x	102 $\pm$ 21
10	300 $\pm$ 240	200 $\pm$ 145	266 $\pm$ 200	145 $\pm$ 79
15	282 $\pm$ 186	105 $\pm$ 22	250 $\pm$ 220	155 $\pm$ 76
30	190 $\pm$ 140	107 $\pm$ 42	190 $\pm$ 130	118 $\pm$ 49
60	105 $\pm$ 80 ^{xxxx}	75 $\pm$ 30 ^x	100 $\pm$ 61 ^{xxx}	68 $\pm$ 26 ^{xx}

Abb. 19 Histaminfreisetzung ins Vollblut von Hunden nach Gabe von Cremophor EL

Cremophor EL 0,1 ml/kg injiziert in die V. femoralis

x = $p < 0,001$, xx = $p < 0,005$, xxx = $p < 0,02$ verglichen mit den Werten des O-Wertes (vor der Injektion)

M.I.H. = maximale initiale Hypotension

Blutgefäß	Histaminkonzentration in ng/ml		
	vor Lensodel 0 min.	nach Lensodel 1 min.	nach Lensodel 6 min.
A. femoralis	53 $\pm$ 19	51 $\pm$ 12	47 $\pm$ 17
V. femoralis	49 $\pm$ 25 ^x	55 $\pm$ 24	65 $\pm$ 26 ^x
V. portae	50 $\pm$ 26	60 $\pm$ 33	62 $\pm$ 48
V. hepatica	44 $\pm$ 22	44 $\pm$ 26 ^x	64 $\pm$ 48 ^x

Abb. 20 Histaminkonzentrationen im Vollblut des Hundes
nach Injektion von Lensodel NP 40 i.v.

(0,02 ml/kg)

$\bar{x} \pm$ S.D. aus 6 Versuchen $x_p < 0,4$

des Vollbluthistamins gemessen werden. So dürfte Histaminfreisetzung nicht die Ursache der Hypotension nach Injektion von Lensodel NF 40 sein. Eine weitere Schlußfolgerung aus diesen Ergebnissen ist aber die, daß Netzmittel nicht unspezifisch zu einer Histaminfreisetzung beim Hund führen, sondern in Abhängigkeit von ihrer chemischen Struktur.

4.4.3. Haemaccel

4.4.3.1. Histaminspiegel im Vollblut von fünf Gefäßbereichen nach Gabe von Haemaccel

Fünf Gefäßgebiete konnten bei der Histaminbestimmung nach Haemaccelinfusion im Vollblut untersucht werden, da für die Bestimmung des Vollbluthistaminspiegels nur 5 ml Blut anstelle von 20 ml bei Plasmapbestimmung benötigt werden (Abb. 21).

Zum Zeitpunkt der maximalen Hypotension wurde die höchste Histaminkonzentration im rechten Vorhof gefunden. Die Histaminwerte der anderen Gebiete nahmen in folgender Reihenfolge ab: Aorta, Vena cava inferior und Vena porta. Die Konzentration in der Vena cava inferior entsprach der in der Vena hepatica.

Nach dem Zeitpunkt der maximalen Hypotension fiel die Vollbluthistaminkonzentration innerhalb von 15 min. auf nahezu normale Werte ab und zeigte dabei fast eine Funktion erster Ordnung. Dies war in 4 der 5 untersuchten Gebiete der Fall. Nur in der Pfortader blieben die Histaminwerte relativ lange erhöht im Vergleich zu den anderen Gefäßbereichen.

Da im rechten Vorhof die höchste Histaminkonzentration gemessen wurde, ist es sehr wahrscheinlich, daß das Histamin speziell aus der oberen Körperhälfte freigesetzt wurde. Da in dieser Region sehr hohe Histaminkonzentrationen in der Kopfhaut, Nackenhaut und am Ohr des Hundes gefunden wurden (Lorenz und Werle, 1975), ist es höchstwahrscheinlich, daß Haemaccel Histamin aus diesen Geweben freisetzt. In diesem Zusammenhang sollte daran erinnert werden, daß auch die mensch-

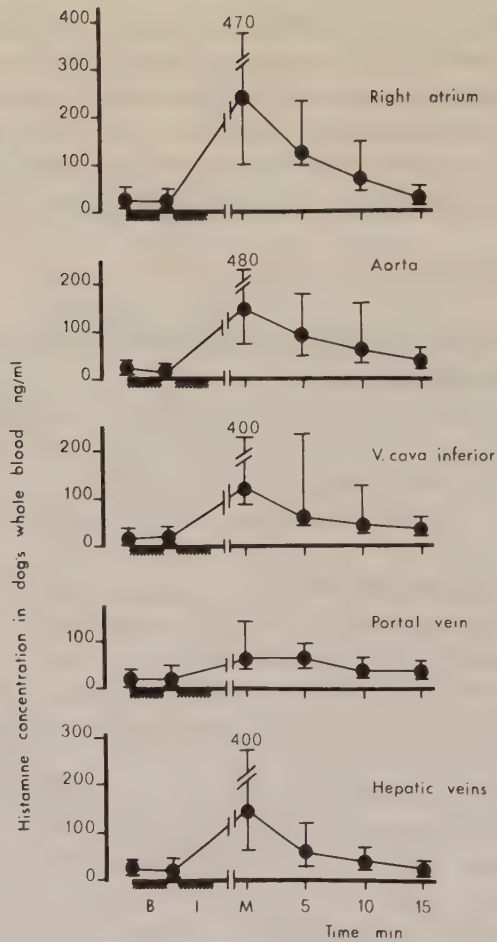


Abb. 21 Vollbluthistaminkonzentrationen aus fünf Kreislaufarealen nach Schnellinfusion von Gelatine (Haemaccel^R)

liche Kopf- und Nackenhaut sehr histaminreich sind und daß die Hautmanifestation bei den anaphylaktoiden Zwischenfällen nach Haemaccelgabe bei Patienten hauptsächlich in dieser Region beobachtet wurden .

Da die Histaminkonzentration in der Aorta niedriger als im rechten Vorhof war, scheint Haemaccel einen signifikanten Anstieg des Histamins durch Freisetzung aus der Lunge nicht zu verursachen. Aufgrund der verschiedenen Histaminwerte in der Aorta, der Pfortader und der Vena hepatica konnte eine Aufnahme von Histamin im Magen-Darm-Trakt und eine Freisetzung aus der Leber festgestellt werden. Jene Tiere, die auf Haemaccel nicht in Form von Hypotension oder Tachykardie reagierten, zeigten auch keine Veränderung des Histaminspiegels in den betroffenen Kreislaufarealen.

4.4.3.2. Gewebshistamingehalt vor und nach Infusion von Haemaccel

Die Veränderung der Gewebshistamingehalte beim Hund nach Infusion von Haemaccel bestätigen die Ergebnisse, die durch die Histaminbestimmung im Vollblut der entsprechenden Kreislaufregionen gefunden wurden (Abb. 22). Nach der Infusion dieses Plasmasubstitutes fiel der Histamingehalt in der Nacken- und Bauchhaut, dem Zwerchfell sowie in der Leber ab. Ob der erkennbare Anstieg des Histamingehaltes des Ileums nur durch eine Aufnahme des Amins aus dem Blut verursacht wurde, scheint fraglich. Es sollte jedoch noch einmal besonders darauf hingewiesen werden, daß bei jenen Tieren, die auf Haemaccel nicht mit Tachykardie, Hypotension oder Anstieg des Vollbluthistaminspiegels reagierten, auch keine signifikanten Veränderungen des Gewebshistaminspiegels gefunden werden konnten.

Gewebe	Histamingehalt in $\mu\text{g/g}$ Frischgewicht		Ände- rung ($\pm$ %)	Signi- fikan- t
	vor d. Infundieren	nach d. Infundieren		
Tiere, die reagierten (n=6)				
Haut, Hals	36.2 $\pm$ 18.0	27.6 $\pm$ 14.5	-24	p < 0.05
Bauch	30.5 $\pm$ 15.2	15.6 $\pm$ 12.4	-49	p < 0.05
Muskel, Zwerch- fell	18.1 $\pm$ 13.8	12.2 $\pm$ 10.6	-33	p < 0.05
Magen, Fundus	90.5 $\pm$ 38.2	91.2 $\pm$ 40.7	0	n.s.
Corpus	66.0 $\pm$ 27.1	62.9 $\pm$ 21.8	-5	n.s.
Antrum	45.7 $\pm$ 15.9	41.3 $\pm$ 11.7	-10	n.s.
Ileum	45.8 $\pm$ 8.5	65.7 $\pm$ 18.0	+43	p < 0.05
Leber	66.6 $\pm$ 24.7	36.2 $\pm$ 17.0	-46	p < 0.05
Lunge	45.6 $\pm$ 21.4	47.8 $\pm$ 25.1	+5	n.s.
Tiere, die nicht reagierten (n=4)				
Haut, Hals	37.1 $\pm$ 12.7	36.1 $\pm$ 10.5	0	n.s. in allen Fällen
Bauch	15.4 $\pm$ 9.8	17.6 $\pm$ 10.1	+14	
Muskel, Zwerch- fell	12.8 $\pm$ 3.6	12.3 $\pm$ 3.7	0	
Magen, Fundus	107 $\pm$ 23.5	108 $\pm$ 46	0	
Corpus	103 $\pm$ 32	97 $\pm$ 31	-6	
Antrum	55.2 $\pm$ 9.6	53.5 $\pm$ 10.3	0	
Ileum	49.0 $\pm$ 13.8	48.1 $\pm$ 5.3	0	
Leber	51.0 $\pm$ 9.8	56.0 $\pm$ 10.6	+10	
Lunge	52.9 $\pm$ 13.5	61.9 $\pm$ 16.9	+17	

Abb. 22 Histamingehalt verschiedener Gewebe des Hundes vor und nach Gabe von Haemaccel^R.

n.s. = nicht signifikant

5. Diskussion

Histaminfreisetzung beim Hund ist ein Modell, mit dessen Hilfe man die biologischen Vorgänge bei Histaminfreisetzung in vivo ausgezeichnet studieren kann. Histamin kann nach Entwicklung der entsprechenden Techniken spezifisch und empfindlich genug gemessen werden, sowohl in Körperflüssigkeiten als auch in Geweben. Außerdem korrelieren die Veränderungen verschiedener physiologischer Parameter wie Blutdruck und Magensaftsekretion sehr gut mit den Veränderungen der Histaminspiegel. Schließlich entspricht auch noch die Zunahme der Histaminspiegel in den Körperflüssigkeiten bei Histaminfreisetzung der Abnahme der Histamingehalte im Gewebe (Lorenz et al., 1974 b).

Nach Injektion von Trypsin, das bei akuter Pankreatitis wie auch im pankreogenen Schock des Menschen eine wichtige Rolle spielen könnte, kommt es beim Hund zu einer langdauernden schweren arteriellen Hypotension. Die Plasmahistaminkonzentration erreicht zeitlich ihr Maximum zusammen mit der maximalen initialen Blutdrucksenkung, aber 15 min. danach ist praktisch alles freie pharmakologisch aktive Histamin verschwunden. Im Gegensatz hierzu bleibt das Vollbluthistamin während einer Stunde nach Injektion stark erhöht. Diese Befunde weisen darauf hin, daß auch die Vollbluthistaminbestimmung und nicht nur die Plasmahistaminbestimmung beim Nachweis von Histaminfreisetzung ihren Platz behält.

Die Bestimmung der Histamingehalte im Vollblut verschiedener Gefäßareale nach Injektion von Trypsin sprach für Histaminfreisetzung vor allem aus der Leber. Dies wurde in weiteren Untersuchungen von Tauber et al., (1974) auch durch die Histaminbestimmung im Gewebe (Leber, Magen, Ileum, Pancreas, Haut, Muskulatur) vor und 15 min. nach Trypsininjektion bestätigt. Der Histamingehalt nahm nach Trypsin nur in der Leber (35 %) und im Magenantrum (28 %) signifikant ab, während er in den übrigen Organen unverändert blieb. Da Trypsin aus dem Pankreas primär die Leber

passiert, sprechen die Befunde dafür, daß bei akuter Pankreatitis Histaminfreisetzung durch Trypsin sogar in erster Linie eine pathophysiologische Rolle spielen könnte. In wie weit diese Histaminfreisetzung durch die Freisetzung von Kininen bedingt oder mitbedingt ist, bleibt allerdings noch zu klären.

Nach Injektion von Epontol^R, dessen Lösungsvermittler Cremophor EL ist, kam es beim Menschen zu einer Histaminfreisetzung, die ihr Maximum nach etwa 5 min. erreichte. Die Histaminfreisetzung bei Normalpersonen verursachte aber keine allergischen Reaktionen oder gar anaphylaktoide Reaktionen. Es fehlten Bronchospasmus, Erythem- und Ödembildung ebenso wie Reaktionen von seiten des Kreislaufes. Nur eine halbmaximale Magensaftsekretion wurde bei den Probanden festgestellt.

Im Gegensatz zu der geringen, klinisch kaum relevanten Histaminfreisetzung durch intravenös applizierte Kurz-narkotika bei Normalpersonen wurden aber bei Zwischenfällen mit Epontol^R erheblich höhere Histaminkonzentrationen gefunden, als sie oben beschrieben wurden. Diese Ergebnisse zeigten, daß

- 1) Proportionalität zwischen der Schwere der anaphylaktoiden Reaktion und dem Anstieg des Plasmahistaminspiegels bestand;
- 2) zeitliche Parallelität zwischen Entstehung und Verschwinden der klinischen Symptomatik und dem Anstieg und Abfall des Plasmahistaminspiegels bestand.

Aus diesen quantitativen Ergebnissen konnte deshalb geschlossen werden, daß bei den beobachteten anaphylaktoiden Zwischenfällen mit Epontol^R Histaminfreisetzung die wesentliche Rolle darstellt. Der Anaesthesist muß deshalb mit Histaminfreisetzung als Narkosekomplikation grundsätzlich rechnen.

Zunächst erschien es äußerst unwahrscheinlich, daß der Lösungsvermittler Cremophor EL als Ursache der Histaminliberierung beim Menschen angesehen werden konnte, obwohl es diese Wirkung am Hund zeigte. Während nämlich Cremophor EL beim Hund eine starke Hypotension und massive Histaminli-

berierung verursachte, konnte am Menschen keine dieser Wirkungen nachgewiesen werden, selbst nicht bei Patienten, die auf Epontol^R stark reagierten. Nachdem aber Althesin, ein Narkotikum auf Steroidbasis, das ebenfalls in Cremophor EL gelöst ist, auch anaphylaktoide Reaktionen verursachte (Lorenz et al., 1973 a), ist diese Interpretation nicht mehr so glaubwürdig. Es besteht die Möglichkeit, daß lediglich der Mensch gegen Cremophor EL unempfindlicher reagiert als der Hund und nur durch die bahnende Wirkung des Narkotikums dann beim Patienten auch eine lebensbedrohliche Histaminfreisetzung ausgelöst werden kann. Damit erhalten unsere Cremophorexperimente eine erhebliche klinische Aktualität.

Unabhängig von den eigenen Untersuchungen über Haemaccel gibt es in der Literatur zahlreiche Hinweise für anaphylaktoide Zwischenfälle nach Infusion von Plasmasubstituten, die teilweise lebensbedrohlich verliefen und in einigen Fällen auch tödlich endeten (Lorenz et al., 1975). Dies legt zumindest den Verdacht nahe, daß Histaminfreisetzung - unabhängig von welcher Ursache - hierbei eine wichtige klinische Bedeutung hat.

Trotzdem gibt es Probleme, die nachgewiesene Histaminfreisetzung durch Haemaccel beim Hund und Dextran bei der Ratte auf die beobachteten anaphylaktoiden Zwischenfälle am Menschen zu übertragen:

1) Die Histaminfreisetzung beim Menschen war zwar mehr oder weniger häufig nachweisbar (Lorenz et al., 1975), doch war ihr Ausmaß mit Ausnahme weniger anaphylaktoider Zwischenfälle sehr gering. Ihr Nachweis war deshalb entsprechend schwierig und, da sie nicht bei allen Probanden auftrat, möglicherweise ein Artefakt der Probennahme, Verunreinigung von Glaswaren, Reagentien oder Geräten. Die letzteren Einwände konnten nur dadurch widerlegt werden, daß nach Infusion der Plasmasubstitute die Eliminationskurve für die Plasmahistaminkonzentration zur grundsätzlichen Bedingung für den Nachweis der Histaminfreisetzung gemacht wurde.

2) Die normalerweise geringfügige Histaminfreisetzung bei den Testpersonen warf aber die grundsätzliche Frage auf, ob die bei Zwischenfällen gefundene massive Histaminfreisetzung auf dieselben Mechanismen zurückzuführen war wie die an den normalen Testpersonen. Für Histaminfreisetzung nach Infusion von Plasmasubstituten gibt es wahrscheinlich mehrere Mechanismen, z.B. anaphylaktische Histaminfreisetzung nach Sensibilisierung, Aktivierung der Faktoren des Komplementsystems oder chemische Histaminfreisetzung durch bestimmte Stoffe oder Fraktionen in den kolloidalen Lösungen (Lorenz et al., 1974 c).

Die geringfügige Histaminfreisetzung bei Testpersonen und die gelegentlich massive Reaktion auf Plasmasubstitute lassen sich unter folgenden Voraussetzungen auf dieselben Mechanismen zurückführen:

1) Aus den Untersuchungen über Kurzsnarkotika wissen wir, daß es nach Injektion von Propanidid am Menschen eine Histaminfreisetzung jeden Grades gibt (Lorenz et al., 1972 d;; Doenicke et al., 1973). Der kontinuierliche Übergang von verschiedenen Schweregraden der Reaktion spricht dafür, daß es möglicherweise Personen mit besonderen Empfindlichkeiten gegenüber einem Histaminliberator gibt. Diese Personen stellen bei einer bestimmten Häufigkeitsverteilung dann nur ein Extrem dar.

2) Für die Histaminfreisetzung durch ein bestimmtes Plasmasubstitut beim Menschen sind nicht diese polymeren Gemische direkt verantwortlich, sondern sie wirken erst nach Aktivierung eines bestimmten körpereigenen Systems oder nur in Kombination mit einem anderen Stoff. Ein Beispiel hierfür könnte Dextran bei der Ratte darstellen. Nach Lagunoff und Benditt (1963), Goth (1972) und Chakravarty et al., (1973) ist Dextran an reinen Populationen von isolierten, gewaschenen Peritonealmastzellen ohne Wirkung oder setzt nur sehr wenig Histamin frei, während die Zugabe eines bestimmten Phospholipides, Phosphatidylserin, die Histaminfreisetzung durch Dextran in exzessivem Maße ermöglicht (Goth et al., 1972; Foreman und Mongar, 1972; Chakravarty et al., 1973). Die Freisetzung von

potenzierenden Faktoren für die Histaminfreisetzung durch Pharmaka ist bei einer Fülle von pathophysiologischen Prozessen denkbar, vor allem bei solchen, die mit Gerinnungsstörungen und Plättchenaggregation einhergehen.

Unter den genannten Voraussetzungen ist es deshalb möglich, daß eine Reihe von Zwischenfällen durch Plasmasubstitute doch auf demselben Wege zustande kommen wie die geringfügige Histaminfreisetzung bei den Testpersonen. Unsere Untersuchungen am Tier wären damit für das Auffinden von potentiellen Histaminliberatoren von großer Wichtigkeit.

6. Zusammenfassung

- 1) Es wurde anhand von drei Isolierungsverfahren für Histamin die Spezifität der Methode für Histaminbestimmung im Vollblut des Hundes festgestellt. Es ergab sich, daß die Dowex-Methode nach Lorenz et al., (1970) hierfür geeignet war.
- 2) Es wurden Normalwerte für die Histaminkonzentrationen in Vollblut und Geweben beim Hund, Kaninchen und *Mastomys natalensis* bestimmt. Der Vergleich der Werte erbrachte deutliche Unterschiede der Histaminkonzentration bei den verschiedenen Arten. Die systematische Untersuchung ergab besonders hohe Histaminwerte in Magen und Ileum. Diese Normalwerte gaben die Grundlage zur späteren Beurteilung einer Histaminliberierung durch Pharmaka.
- 3) Es wurde die Vollbluthistaminkonzentration vor und nach intravenöser Gabe von Trypsin beim Hund gemessen. Die Ergebnisse ergaben eine signifikante Histaminfreisetzung aus der Leber.
- 4) Nach intravenöser Gabe von Cremophor EL zeigten Hunde einen Blutdruckabfall und eine erhöhte Magensaftsekretion. Die Bestimmung des Vollbluthistamins deutet auf eine Freisetzung von Histamin aus dem Darm und der Körperperipherie hin. Im Vergleich mit Cremophor EL wurde ein anders Netzmittel, Lensodel NP 40, untersucht. Dieses verursachte zwar eine Hypotension, zeigte jedoch keine Histaminfreisetzung.
- 5) Zur Untersuchung von Histaminfreisetzung durch den Plasmaexpander Haemacel^R beim Hund wurden Vollblut- und Gewebhistaminwerte bestimmt. Es zeigte sich, daß die Blutdruckreaktionen auf Haemacel durch Histaminfreisetzung zu erklären sind. Haemacel setzte Histamin aus der oberen Körperhälfte und der Leber frei.

- 6) Die Bedeutung der Histaminfreisetzung durch die genannten Stoffe beim Hund für die Klinik wird diskutiert.

7. Literatur

- ANDERSON, R. und HARDENBERGH, E.:
Anaphylactoid reaction of the mouse to dextran.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 117, 565-567 (1967)
- ANREP, G.V.; BARSOUM, G.S. und TALAAT, M.:
Release of histamine by the liver.
J. Physiol. (London) 120, 419-426 (1953)
- ANTON, W.; LAUBE, R. und MENDE, H.E.:
Histaminfreisetzung bei der Durchführung von Intubationsnarkosen. 1. Mitteilung
Dtsch. Ges.wesen 28, 84-86 (1973)
- BLACK, J.W., DUNCAN, W.A.M.; DURANT, C.J.; GANELLIN, C.R.
und PARSONS, E.M.:
Definition and antagonism of histamine H₂-receptors.
Nature 236, 385-390 (1972)
- BÜTTNER, H.; HANSERT, E. und STAMM, D.:
Auswertung, Kontrolle und Beurteilung von Messergebnissen, in:
Handbuch für enzymatische Analyse
Ed. H.U. Bergmeyer: Verlag Chemie 1970, S. 281
- CHAKRAVARTY, N.; GOTH, A. und SEN, P.:
Potentiation of dextran-induced histamine release from rat mast cells by phosphatidyl serine
Acta physiol.scand. 88, 469 (1973)
- DOENICKE, A.; LORENZ, W.; BEIGL, R.; BEZECNY, H.; UHLIG, R.; KALMAR, L.; PRETORIUS, B. und MANN, G.:
Histamine release following intravenous administration of short-acting hypnotics. A comparison of Etomidate, Althesin CT 1341 and Propanidid.
Br. J. Anaesth. 45, 1097-1104 (1973)
- FOREMAN, J.C. und MONGAR, J.L.:
Effect of calcium on dextran-induced histamine release from isolated mast cells.
Brit. J. Pharmacol. 46, 767 (1972)
- GIERTZ, H. und HAHN, F.:
Makromolekulare Histaminliberatoren (Eiklar, Dextran, Polyvinylpyrrolidon, Tween 20, Anaphylatoxin).
Handb. exp. Pharmakol., ed. Eichler und Farah, Springer-Verlag, Heidelberg-Berlin-New York, 18, 482-568 (1966)
- GOTH, A.:
Histamine release by drugs and chemicals, in:
Histamine and Antihistamine. Intern. Encyclopedia of Pharm. an Therap., 74/1 (Pergamon Press, Oxford) 1972 S. 25

HAHN, F. und WELLMANN, A.:

Experimentelle Untersuchungen über Histaminfreisetzung
durch künstliche Blutersatzmittel.
Klin. Wschr. 30, 998-999 (1952)

HAINING, C.G.:

Histaminfreisetzung im Kaninchenblut durch Dextran und
Dextransulfat
Brit. J. Pharmacol. 10, (1955)

HÅKANSON, R.; RÖNNBERG, A.L. und SJÖLUND, K.:

Fluorometric determination of histamine with OPT:
optimum reaction conditions and tests of identity.
Analyt. Biochem. 47, 356-370 (1972)

HALPERN, B.N.:

Histamine release by long chain molecules, in:
Symp. on histamine, Ciba Foundation, ed. Churchill
(London) 92-123 (1956)

KATZ, D. und SIEGEL, H.:

Progr. Gastroenterol. 1, 67 (1968)

KELLER, R.:

A study of the mastocytolytic effects of polycations
in the presence of certain plasma substitutes
Bibl. haematol. (Bash) 1969, 33, 126

KRANTZ, J.C.; CARR, C.J.; BIRD, J.G. und COOK, S.:

Sugar alcohols. 26. Pharmacodynamic studies of poly-
oxyalkylene derivatives of hexitol anhydride partial
fatty acid esters.
J. Pharmacol. 93, 188-195 (1948)

KUSCHE, J.:

Bestimmung von Ammoniak abspaltenden Enzymen unter be-
sonderer Berücksichtigung der Diaminoxidase
Med. Diss. München 1970

LAGUNOFF, D. und BENDITT E.P.:

Proteolytic enzymes of mast cells.
Ann. New York Acad. Sci. 103, 185 (1963)

LAWRIE, J.A.; SMITH, G.M.R. und FOREST, A.P.M.:

The histamine - infusions - test.
Lancet II, 270 (1964)

LINDELL, S. und VISKE, K.:

A note on the distribution of (^{14}C)-histamine added to
blood
Brit. J. Pharmacol. 17, 113-136 (1961)

- LORENZ, W.; BENESCH, L.; BARTH, H.; MATEJKA, E.; MEYER, R.; KUSCHE, J.; HUTZEL, M. und WERLE, E.:
Fluorometric assay of histamine in tissue and body fluids. Choice of purification procedure and identification in the nanogram range.
Z. Anal. Chem. 252, 94 (1970)
- LORENZ, W.; DOENICKE, A.; FEIFEL, G.; MESSMER, K.; MEYER, R.; BENESCH, L.; BARTH, H.; KUSCHE, J.; HUTZEL, M.; WERLE, E.:
Histamine release in man by propanidid (Epontol^R), gelatine (Haemaccel^R), histalog, pentagastrin and insulin.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac. 266, 396 (1970 a)
- LORENZ, W.; DOENICKE, A.; MEYER, R.; REIMANN, H.J. und WERLE, E.:
Histamine release in man as cause of hypotensive reactions after anaesthesia with propanidid.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac. 270, 90 (1971)
- LORENZ, W.; SCHAUER, A. und REIMANN, H.J.:
Biochemical and histochemical studies of the histamine stores in the pig.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac. 269, 416 (1971 a)
- LORENZ, W.; DOENICKE, A.; MESSMER, K.; und REIMANN, H.J.:
Histamine release in man and dog by plasma substitutes.
Acta Pharmacol. Toxicol. 29, Suppl. 4, S. 31 (1971 b)
- LORENZ, W.; DOENICKE, A.; SCHMAL, A.; REIMANN, H.J.; HUTZEL, M. und WERLE, E.:
Zur Speziespezifität der Histaminfreisetzung aus Mastzellspeichern durch Cremophor EL.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac. 269, 417 (1971 c)
- LORENZ, W.; DOENICKE, A.; MEYER, R.; REIMANN, H.J.; KUSCHE, J.; BARTH, H.; GEESING, H.; HUTZEL, M. und WEISSENBACHER, B.:
An improved method for the determination of histamine release in man: its application in studies with propanidid and thiopentone.
Europ. J. Pharmacol. 19, 180 (1972)
- LORENZ, W.; DOENICKE, A.; MEYER, R.; REIMANN, H.J.; KUSCHE, J.; BARTH, H.; GEESING, H.; HUTZEL, M. und WEISSENBACHER, B.:
Histamine release in man by propanidid and thiopentone: pharmacological effects and clinical consequences.
Brit. J. Anaesth. 44, 355 (1972 a)
- LORENZ, W.; REIMANN, H.J. und SCHMAL, A.:
The site of histamine release in dog by cremophor EL.
Abstracts 5th Int. Congr. Pharmacol., San Francisco (1972 b)
- LORENZ, W.; REIMANN, H.J.; BARTH, H.; KUSCHE, J.; MEYER, R.; DOENICKE, A. und HUTZEL, M.:
A sensitive and specific method for the determination of histamine in human whole blood and plasma.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol.Chem. 353, 911-920 (1972 c)

- LORENZ, W.; SCHMAL, A.; REIMANN, H.J.; TAUBER, R.; UHLIG, R.;
MANN, G.; BARTH, H.; KUSCHE, J.; SEIDEL, W.; DOENICKE, A.;
HAMELMANN, H. und WERLE, E.:
Histamine release in man, dog and pig.
J. de Pharmacol. (Paris) 3, 526 (1972 d)
- LORENZ, W.; MATEJKA, E.; SCHMAL, A.; SEIDEL, W.; REIMANN, H.J.;
UHLIG, R. und MANN, G.:
A phylogenetic study on the occurrence and distribution
of histamine in the gastrointestinal tract and other
tissues of man and various animals.
Comp. General Pharmacol. 4, 229 (1973)
- LORENZ, W.; DOENICKE, A.; REIMANN, H.J.; THERMANN, M.; TAUBER, R.;
SCHMAL, A.; DORMANN, P.; HENSEL, H.; HAMELMANN, H. und
WERLE, E.:
Plasma histamine determination in man and dog following the
infusion of plasma substitutes: models for histamine release
under pathophysiological conditions.
Agents and Actions 3/3, 183-184 (1973 a)
- LORENZ, W.; HELL, E.; BOECKE, O.; REIMANN, H.J.; ZIMMERMANN, G.;
SEIDEL, W.; LASZCZ, M. und UHLIG, R.:
Histamine release during orthopic homologous liver trans-
plantation in pigs.
Europ. Surg. Res. 5, 11-20 (1973 b)
- LORENZ, W.; DOENICKE, A.; MESSMER, K.; REIMANN, H.J.; LAHN, W.;
BEEZ, K.; SCHMAL, A.; DORMANN, P.; THERMANN, M. und
HAMELMANN, H.:
Histamine release in human subjects by modified gelatin
(Haemacel) and dextran: explanation for anaphylactoid
reactions observed under clinical conditions.
Brit. J. Anaesth. (1975)
- LORENZ, W.; SEIDEL, W.; DOENICKE, A.; TAUBER, R.; REIMANN, H.J.;
UHLIG, R.; MANN, G.; DORMANN, P.; SCHMAL, A.; HÄFNER, G.
und Hamelmann, H.:
Elevated plasma histamine concentrations in surgery:
cause and clinical significance.
Klin. Wschr. 52, 419-425 (1974)
- LORENZ, W.; BARTH, H.; THERMANN, M.; SCHMAL, A.; DORMANN, P. und
NIEMEYER, J.:
Fluorometric histamine determination in canine plasma at
normal conditions, following applications of exogenous
histamine and during histamine release by Haemacel.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 355, 1097-1111 (1974 a)
- LORENZ, W.; THERMANN, M.; MESSMER, K.; SCHMAL, A.; DORMANN, P.;
KUSCHE, J.; BARTH, H.; TAUBER, R.; HUTZEL, M.; MANN, G.
und UHLIG, R.:
Evaluation of histamine elimination curves in plasma and
whole blood of several circulatory regions: A method for
studying kinetics of histamine release in the whole animal.
Agents and Actions 4, 336-356 (1974 b)

LORENZ, E.; BARTH, H.; KARGES, H.E.; SCHMAL, A.; DORMANN, P. und NIEMEYER, J.:

Problems in the assay of histamine release by gelatin: o-phthaldialdehyde - induced fluorescence, inhibition of histamine methyltransferase and H_1 -receptor antagonism by Haemacel.

Agents and Actions 4, 324-335 (1974 c)

LORENZ, W. und WERLE, E.:

Vorkommen, Verteilung und subzelluläre Lokalisation von Histamin im menschlichen, tierischen und pflanzlichen Organismus.

Int. Enzycl. Pharmacol. Therap. Ed. R. Maxwell, Pergamon Press Oxford

LOWRY, O.H.:

The chemical measurement of histamine in blood and cells. J. Pharm. Exp. Ther. 112, 116-124 (1954)

MESSMER, K.:

Acute hypotension and histamine liberation following rapid infusion of plasma substitutes in dogs.

Europ. Surg. Res. 1, 188 (1969)

MESSMER, K.; LORENZ, W.; SUNDER-PLASSMANN, L.; KLOEVEKORN, W.P. und HUTZEL, M.:

Histamine release as cause of acute hypotension following rapid colloid infusion.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 267, 433-445 (1970)

MEYER-BURGDORF :

Freisetzung von Histamin und Serotonin bei extrakorporaler Zirkulation

Anaesthesist 22, 212-216 (1973)

ROCKHOFF, S.D. und AKER, U.T.:

Contrast media as histamine liberators: VI. Arterial plasma histamine and hemodynamic responses following angiocardio-graphy in man with 75 % hypaque.

Invest. Radiol. 7, 403 (1972)

SCHWICK, H.G. und HEIDE, K.:

Immunochemistry and Immunology of collagen and gelatin

Bibl. haemat. (Bash) 33, 111 (1969)

SEIDEL, W.; LORENZ, W.; DOENICKE, A.; MANN, G. und UHLIG, R.:

Histamine release in man and acute gastro-duodenal ulcers.

Brit. J. Surg. 60, 320 (1973)

SEIDEL, W.; LORENZ, W.; DOENICKE, A.; MANN, G.; UHLIG, R. und ROHDE, H.:

Histaminfreisetzung beim Menschen und Streptococcuspathogenese.

Z. Gastroenterol. 11, 297-300 (1973 a)

SNEDECOR, G.W. und COCHRAN, W.G.:

Statistical methods

Iowa State University Press Am., p. 62 (1959)

SHORE, P.A., BURKHALTER, A. und COHN, V.H.:

A method for the fluorometric assay of histamine in tissues
J. Pharmacol. Exp. Therap. 127, 182 (1959)

- TAUBER, R.; UHLIG, R.; MANN, G.; SCHMAL, A. und LORENZ, W.:
Histamine release from the liver by trypsin.
Brit. J. Surg. 59, 913 (1972)
- TAUBER, R.; LORENZ, W.; SCHMAL, A.; DORMANN, P.; MANN, G.;
UHLIG, R. und MAROSKE, D.:
Histaminfreisetzung beim Hund durch Trypsin und Kallikrein.
Frage einer pathophysiologischen Bedeutung bei der akuten
Pankreatitis.
Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chir. Forum 1974, p. 135-137
- THOMPSON, W.L. und WALTON, R.P.:
Elevation of plasma histamin levels in the dog following
administration of muscle relaxans, opiates and macromole-
cular polymers.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 143, 131-135 (1963)
- VOORHEES, A.B.; BAKER, H.J. und PULASKI, E.J.:
Reaction of albino rats to injections of dextran.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 76, 254-256 (1951)
- WALTON, K.W. und RICKETTS, C.R.:
Anaphylactoid response in guinea pigs to the parenteral
administration of sulphate sters of high molecular weight
of dextran
Nature 173, 31 (1954)
- WALTON, R.P.; RICHARDSON, J.A. und THOMPSON, W.L.:
Hypotension and histamine release following intravenous
injection of plasma substitutes
J. Pharmacol. exp. Ther. 127, 39-35 (1959)
- WERLE, E. und SCHIRREN, V.:
Einfluß von Diaminoxidasegaben auf den anaphylaktischen
Schock des Meerschweinchens.
Zeitschr. für die ges. experimentelle Med. 138,
522-530 (1965)

Herrn Prof. Dr. med. Wilfried Lorenz, meinem Doktorvater, danke ich für seinen hilfreichen Rat, seine anspornend belehrende wissenschaftliche Anleitung und Förderung.

Mein Dank gilt weiterhin den Mitarbeitern der Abteilung, insbesondere Herrn Anton Schmal, für die freundschaftliche Mithilfe und Unterstützung bei dieser Arbeit.

Ferner danke ich den Herren Prof. Dr. med. A. Doenicke, Prof. Dr. med. W. Seidel und Dr. med. R. Tauber für die mit zuteil gewordene Hilfe.

LEBENS LAUF

Am 31. 7. 1949 wurde ich in Köppern im Taunus als Sohn der Eheleute Magrit und Willi Mann geboren.

Ab 1956 besuchte ich die Grundschule in Köppern im Taunus und wechselte dann nach dem 4. Schuljahr 1960 in das Gymnasium (Kaiserin Friedrich Schule) in Bad Homburg. Dort legte ich dann 1968 auch die Reifeprüfung ab.

Im Herbst 1968 begann ich mit dem Medizinstudium in Marburg an der Lahn, das ich am 15. 7. 1974 in Marburg erfolgreich beenden konnte. Während der klinischen Semester erhielt ich eine Doktorarbeit in der Abteilung für experimentelle Chirurgie und pathologische Biochemie an der Chirurgischen Universitätsklinik Marburg (Vorstand: Prof. Dr. med. W. Lorenz) bei Prof. Dr. med. Lorenz.

Meine Medizinalassistentenzeit habe ich in Marburg an der Universitätskinderklinik, der Medizinischen Poliklinik und der Chirurgischen Universitätsklinik verbracht.

Im Januar 1974 heiratete ich die Krankenschwester Waltraud Faupel.

Meine akademischen Lehrer an der Philipps-Universität Marburg waren die Herren Professoren und Dozenten :

Amon, Aurich, Berendes, Bommer, Braasch, Brück, Buchholz, Daume, Dehnicke, Dimroth, Dölle, Eissner, Engelhardt, Exner, Friederich, Ganz, Golenhofen, Graul, Grundner, Hamelmann, Hardewig, Hensel, Hess, Heuser, Hildebrandt, Hort, Jakob, Karlson, Klaus, Koecke, Köbler, Korb, Kühnel, Linneweh, Mann, Martini, Nesswetha, Petry, Pots, Reim, Remschmidt, Rodeck, Rohen, Schleyer, Schmid, Schmitz-Moormann, Seidel, Siegert, Straub, Thoenes, Uhlarik, Walcher, Wehrmeyer.

